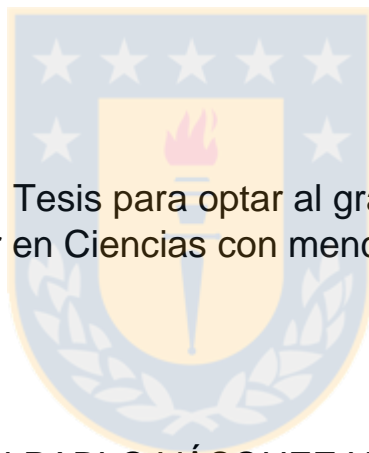




Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Programa de Magíster en Ciencias con mención en Zoología

**MICROSATÉLITES EN EL ESPACIO: DELINEANDO LA  
ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA VICUÑA  
(*Vicugna vicugna* Molina, 1782)**



Tesis para optar al grado de  
Magíster en Ciencias con mención en Zoología

JUAN PABLO VÁSQUEZ HERNÁNDEZ  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2017

Profesor Guía: Juan Carlos Marín Contreras  
Departamento de Ciencias Básicas,  
Facultad de Ciencias  
Universidad del Bío Bío

Profesor Co-Guía: Daniel Gómez Uchida  
Departamento de Zoología,  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Universidad de Concepción

## **Agradecimientos**

Agradezco a Beca CONICYT PCHA/MagísterNacional/2014-22140806 por el financiamiento durante mi estadía en el programa de magíster y al proyecto FONDECYT 1140785 por el financiamiento de esta investigación.

A mi profesor guía, Dr. Juan Carlos Marín Contreras por acceder a dirigir esta tesis y los distintos trabajos realizados durante los años de estadía en el programa y por su apoyo incondicional durante los años que llevamos trabajando juntos. A mi profesor co-guía, Dr. Daniel Gómez-Uchida por sus consejos en todos mis trabajos presentados y sus valiosas contribuciones que han realzado la calidad de esta tesis. A los docentes que conforman mí comisión evaluadora; Dr. Benito González y Dr. Claudio Correa por sus importantes aportes durante la revisión de mí manuscrito. Igualmente quiero agradecer la directora del programa, Dra. Lucila Moreno por su preocupación, disposición y amabilidad en todo momento y a todos los docentes que forman parte del programa y han contribuido de una u otra forma en mi desarrollo académico.

También agradezco al equipo del Laboratorio de Genómica en Ecología, Evolución y Conservación (GEEC LAB) por acogerme durante el tiempo de permanencia en Concepción, en especial a Selim Musleh por su disponibilidad y gran ayuda en la realización de algunos análisis presentados en este trabajo. A mis compañeros del Laboratorio de Genómica y Biodiversidad de la UBB por su colaboración durante la fase experimental, especialmente a Jorge Cortés y Romina Rivera. A mis compañeros de magíster: Benjamín, Paulo, Francisca y Mario, por su gran ayuda en los tiempos de estudio y por hacer mucho más ameno el paso por el programa.

Y por último agradezco a mi familia, padres y hermanos por su apoyo, y en especial, a mi esposa Anjela y mi hijo Felipe, ya que han sido ellos quienes me han dado su fuerza y amor incondicional para seguir adelante y terminar esta etapa con éxito.

## TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	iv
INTRODUCCIÓN	1
• Marcadores genéticos	1
• Genética y geografía	3
• La vicuña, origen y clasificación	4
• Distribución y hábitat de la vicuña	7
• Organización social y reproducción	7
• Diversidad genética	8
• Numero poblacional y conservación	9
OBJETIVO GENERAL	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
HIPÓTESIS	11
METODOLOGÍA	12
• Muestras y genotipificación	12
• Diversidad genética y estructura poblacional	13
• Diversidad genética y condiciones ambientales	18
• Cuellos de botella	18



RESULTADOS	20
• Genotipificación y diversidad genética	20
• Estructura poblacional	20
• Autocorrelación espacial	29
• Diversidad genética y factores ambientales	29
• Cuellos de botella	29
DISCUSIÓN	32
• Diversidad genética y estructura poblacional	32
• Autocorrelación espacial	34
• Diversidad y ambiente	36
• Conservación	37
CONCLUSIONES	39
REFERENCIAS	40
ANEXOS	53



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fotografías de representantes de subespecies de vicuña A: *Vicugna vicugna mensalis* del Sector de “Las Cuevas”, Parque Nacional Lauca, Chile; B: *Vicugna vicugna vicugna* de Salar de Ascotán, Chile. 6
- Figura 2.** Localidades muestreadas de *Vicugna vicugna* distribuidas a lo largo de su distribución actual. Se indica la ubicación y la abreviatura de cada localidad (ver Tabla 1). 16
- Figura 3.** Distribución de genotipos individuales mediante STRUCTURE con una asignación de  $k=2$ . Se indican los individuos pertenecientes al Cluster Norte (*V. v. mensalis*) en verde, Cluster Sur (*V. v. vicugna*) en rojo y además se indica la que corresponde a la Zona de contacto o Zona Híbrida con líneas punteadas detectada con HybridLab y el test de asignación. Se indican las poblaciones detectadas con Geneland y las localidades pertenecientes a cada población entre paréntesis. 22
- Figura 4.** Poblaciones de la especie *Vicugna vicugna* asignadas con Geneland y localidades por cada población. Clusters Norte (línea verde) y Cluster Sur (línea roja) definidos por STRUCTURE. La Zona Híbrida, determinada con HibridLab y test de asignación poblacional, es representada con línea punteada azul. 25
- Figura 5.** Distancias de autocorrelación espacial para (a) especie *Vicugna vicugna*, (b) subespecie *Vicugna vicugna mensalis*, (c) subespecie *Vicugna vicugna vicugna*, (d) machos de la especie *Vicugna vicugna* y (e) hembras de la especie *Vicugna vicugna*. En el eje y se indican los coeficientes de autocorrelación ( $r$ ), mientras que en el eje x las clases de distancia de autocorrelación en kilómetros. 30
- Figura 6.** Matriz de correlación de Pearson entre Precipitación anual vs  $H_e = -0,606$ ;  $p = 0,002$ , coeficientes de determinación ( $R^2 = 0,367$ ) (ver anexo 6). Se indican las localidades y en líneas punteadas verdes las localidades pertenecientes al Cluster Norte, mientras que las líneas punteadas de color rojo, las localidades pertenecientes al Cluster Sur. 31

## LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Localidades analizadas (entre paréntesis abreviaturas), subespecie a la que pertenece, tipo de muestra (S: sangre; P: piel; M: músculo; F: feca), total de individuos, sexos identificados por localidad: MACHOS, HEMBRAS o INDEFINIDOS (individuos cuyo sexo no pudo ser identificado) y coordenadas geográficas de cada localidad. 17
- Tabla 2.** Índices de diversidad y desviación estándar (SD) genética por población y subespecies. Los índices de diversidad son A: Promedio de alelos por locus; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada, Fis: Índice de endogamia. Resultados de análisis de señales de cuello de botella con bottleneck según los modelos mutacionales IAM, SMM, TPM y L-Shift. Los índices significativos \* indican señal de reducciones demográficas recientes según el modelo, los índices no significativos (ns) indican ausencia de señal de reducción demográfica reciente según el modelo. 21
- Tabla 3.** Asignación de individuos de cada población a los Cluster: *Vicugna vicugna mensalis* o Cluster Norte; *Vicugna vicugna vicugna* o Cluster Sur; o Híbrido. Se indica el porcentaje de individuos y entre paréntesis el número respectivo de ellos correspondiente a cada población. En negrita las poblaciones con mayor porcentaje de Híbridos. 26
- Tabla 4.** Índices de estructuración FST entre pares de poblaciones de la subespecie *Vicugna vicugna mensalis*. ns: no significativo; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,0001$ . 27
- Tabla 5.** Índices de estructuración FST entre pares de poblaciones de la subespecie *Vicugna vicugna vicugna*. ns= no significativo; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,0001$ . 28

## LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1.** Localidades con sus índices de diversidad genética: Promedio de alelos por locus (A), heterocigosidad observada ( $H_o$ ), esperada ( $H_e$ ) y factores ambientales: Precipitaciones anuales (milímetros: mm), Temperatura promedio Anual (en grados Celsius: °C) y Altitud; Altitud (metros sobre el nivel del mar: msnm). 53
- Anexo 2.** Delta K de Evanno basado en los datos microsatélites de *Vicugna vicugna*. El mayor Delta K=2 (Delta K =  $\text{prom.}(|L''(K)|) / \text{sd}(L(K))$ ) según Evanno *et al.* (2005) como función de K. 54
- Anexo 3.** Tasas de migración entre pares de poblaciones de la subespecie *Vicugna vicugna mensalis*. Los índices representan la fracción de individuos de la población receptora que son migrantes de la población de origen por generación. 55
- Anexo 4.** Tasas de migración entre pares de poblaciones de la subespecie *Vicugna vicugna vicugna*. Los índices representan la fracción de individuos de la población receptora que son migrantes de la población de origen por generación. 56
- Anexo 5.** Tasas de migración entre poblaciones cercanas del Cluster Norte (M8, M9) y Cluster Sur (V2, V4) con la Zona híbrida. Los resultados se presentan como la tasa de individuos de una población que tienen un origen en otra población. 57
- Anexo 6.** Correlación entre diversidad genética; heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y variables ambientales: altitud, precipitación anual y promedio de temperatura anual. b) valores p de cada correlación de diversidad con condición ambiental y c) coeficientes de determinación ( $R^2$ ) entre diversidad y condición ambiental. 58

## RESUMEN

El conocimiento de la estructura genética actual y como esta se relaciona con el entorno de una especie puede ser útil para el conocimiento de la misma y la toma de decisiones en futuros planes de conservación. La vicuña, *Vicugna vicugna* Molina 1782, es una de las cuatro especies de camélidos sudamericanos que existen en la actualidad y una de las dos especies nativas silvestres de la tribu *Lamini* que ha tenido serios problemas de conservación en el pasado. La vicuña ha sufrido reducciones demográficas abruptas en el pasado reciente llevándola al borde de la extinción a mediados del siglo XX. Afortunadamente, exitosos planes de conservación y manejo han permitido que en la actualidad sus poblaciones más septentrionales estén fuera de peligro de extinción, convirtiéndola en un ícono de conservación. El objetivo de esta investigación es determinar la estructura genética actual de 23 localidades de vicuña presentes a lo largo de toda su distribución, usando marcadores genéticos biparentales para evaluar de qué forma las características espaciales y la reducción poblacional han influido en sus patrones genéticos actuales. Para ello se analizaron 303 individuos de Perú, Argentina y Chile distribuidos entre los 11° a los 29° S, utilizando 15 loci microsatélites altamente variables en camélidos sudamericanos. A través de aproximaciones basadas en poblaciones e individuos, incluyendo inferencia Bayesiana y análisis espaciales, se analizó la diversidad y estructura genética de los grupos en estudio. Los resultados indican una menor diversidad genética y mayores índices de estructuración en las poblaciones de la distribución norte, correspondientes a la subespecie *Vicugna vicugna mensalis*. Nuestros resultados muestran además escasas migraciones interpoblacionales en todas las poblaciones, con una leve distancia de autocorrelación espacial diferencial entre sexos, siendo mayor en hembras. Nuestros datos muestran también una correlación negativa entre diversidad genética y la precipitación anual, incrementando la diversidad genética y la diferenciación de las poblaciones de la distribución sur, correspondientes a la subespecie *Vicugna vicugna vicugna*. Por último, nuestro trabajo permite proponer la existencia de poblaciones prioritarias para futuros planes de conservación y manejo de la especie.



## ABSTRACT

Knowledge of the current structure and how it relates to the environment of a species can be useful for knowledge from them and decision-making in future conservation plans. The vicuña, *Vicugna vicugna* Molina 1782, is one of the four species of South American camelids that currently exist and one of the two wild native species of the *Lamini* tribe, which has had serious conservation problems in the past. The vicuña has undergone abrupt demographic reductions in the past taking it to the brink of extinction in the midtwentieth century. Fortunately, successful conservation and management plans have allowed today's more northern populations to be out of danger, making it a conservation icon. The objective of this research is to determine the current genetic structure of 23 vicuña localities distributed through their distribution, using biparental genetic markers, to evaluate how spatial characteristics and population reduction have influenced their current genetic patterns. For this, 303 individuals from Peru, Argentina and Chile were analyzed between 11° and 29° S, using 15 highly variable microsatellite loci in South American camelids. The diversity and genetic structure of the groups under study were analyzed through population and individual approaches, including Bayesian inference and spatial analysis. Our results indicate less genetic diversity and higher indexes of structuring in the populations of the northern distribution, corresponding to the subspecies *Vicugna vicugna mensalis*. Our results also show little interpopulation migrations in all populations, with a slight distance of differential spatial autocorrelation between sexes, being higher in females. Our data also show a negative correlation between genetic diversity and annual precipitation, increasing genetic diversity and differentiation of populations of the southern distribution, corresponding to the subspecies *Vicugna vicugna vicugna*. Finally, our work allows proposing the existence of priority populations for future conservation and management plans for the species.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad los planes de manejo y conservación de las especies requieren conocer la diversidad genética, la estructura poblacional, el flujo genético y la historia demográfica de las poblaciones que las componen (Marín & Benado, 2005) y en relación a esto es que se han adoptado las definiciones de ciertas unidades de tratamiento, entre ellas las que menciona Moritz (1994), Unidades de Manejo o “UM” y las Unidades de Significancia Evolutiva o “ESU”; las primeras corresponden a poblaciones reconocidas con divergencia significativa de frecuencias de alelos nucleares o mitocondriales, independientemente del carácter filogenético distintivo de los alelos, y en términos de conservación apunta a la actual estructura poblacional, frecuencias alélicas y problemas de manejo a corto plazo. Y desde un enfoque a macro-escala temporal, las “ESU”, corresponden a grupos con monofilia recíproca a partir de alelos de mtDNA y divergencia significativa de la frecuencia de los loci nucleares, este en términos de conservación se preocupa de la estructura poblacional histórica. Marín *et al.* (2007) propone para la vicuña dos ESUs correspondientes a las dos subespecies descritas, mientras que Sarno *et al.* (2004), utilizando cuatro poblaciones no logra proponer ESUs por falta de monofilia recíproca; sin embargo, propone la existencia de poblaciones que puedan ser consideradas como UM, al igual que Wheeler *et al.* (2001) en Perú, ya que evidencian divergencia discreta en los alelos nucleares.

## MARCADORES GENÉTICOS

Los marcadores genéticos no representan los genes en sí, pero actúan como señales genéticas ya que son secuencias específicas (Collard *et al.*, 2005). Estas señales son las que permiten establecer semejanzas o similitudes entre los individuos analizados, siendo más eficientes cuando los marcadores utilizados son más específicos y abundantes. En la actualidad existen herramientas moleculares que permiten realizar estudios de diversidad genética, encontrando diversas metodologías como Secuencias Simples Repetidas (SSR o microsatélites).

Los marcadores microsatélites o también llamados SSRs (Simple Sequence Repeat) o STRs (Short Tandem Repeat), son matrices de repeticiones cortas de 2 a 5 nucleótidos repetidos en tandem (Hancock, 1999) ampliamente distribuidos en el genoma de eucariontes y algunos procariontes (Fiel & Wills, 1998; Tóth *et al.*, 2000) con altas tasas de mutación en comparación con el resto de genoma

(Jarne & Lagoda, 1996) y un número variable de copias que, gracias su alta heterocigocidad, han demostrado ser una poderosa herramienta de mapeo genético (Amagai *et al.*, 2017; Röder *et al.*, 1998), estudios de paternidad (Agapito *et al.*, 2008; Luikart *et al.*, 1999; Rodriguez *et al.*, 2006) y la evaluación de la estructura genética dentro de poblaciones y especies (Hulva *et al.*, 2010; Miao *et al.*, 2014).

En camélidos y mamíferos en general han sido de gran utilidad, pues han servido para el mejoramiento del reconocimiento de especies, identificación parental, análisis forense, conservación y detección de poblaciones biológicas y análisis genético de ganado, y aunque originalmente fueron diseñados para la investigación en humanos, se han convertido en una poderosa herramienta para la investigación en animales y plantas, ya que proveen información relevante para la identificación y conservación de unidades genéticas y para la investigación de procesos genéticos y la incidencia de deriva genética (Heywood & Iriondo, 2003).

Además de lo anterior, los marcadores genéticos han sido de gran utilidad en el campo de la determinación del sexo de individuos. Su información ha sido utilizada en varios trabajos con fines de conservación o investigación, específicamente en aquellas especies en las que no es posible observar el sexo del animal al que pertenece la muestra (Montenegro *et al.*, 2012) y en ellas la técnica de PCR ha podido aportar importante información a su esclarecimiento. Entre las técnicas se encuentra la amplificación de segmentos de un gen con variantes presente en los cromosomas X e Y, como el caso del gen Zinc Finger Protein (ZF) (Aasen & Medrano, 1990; Prithiviraj & Melnic, 2001). La combinación de los cebadores zfx2 y zfx4 amplifica una región presente en el cromosoma X de machos y hembras. Esta región es de unos 350 pb y como es apreciable en ambos sexos, estos no se pueden diferenciar, sin embargo, la combinación zfx2 – zfy2 amplifica solo una región presente en el cromosoma Y en machos. Esta por su parte es de una longitud menor que la anterior con unos 130 pb.

En la práctica la determinación del sexo de los individuos se realiza mediante la observación directa de los segmentos amplificados con la técnica de PCR. Siendo para las hembras evidente solo la amplificación de la combinación de los cebadores zfx2-zfx4, observándose solo una banda de 350 pb en el gel de agarosa. Mientras que en machos se observa esta banda, más la amplificación del otro par de cebadores (zfx2-zfy2), a lo que se agrega una segunda banda de 130 pb. Esta técnica sin embargo, disminuye su efectividad según el tipo de muestra a utilizar, alcanzando en las muestras fecales un

éxito de un 50% de asertividad. Para lo cual se emplea la adición de otra combinación de cebadores para la amplificación que corresponde al gen Sry (Sex-determining Region Y chromosome).

El gen Sry está presente sólo en el cromosoma Y, es de unos 175 pb y es ampliamente utilizado en el sexaje de mamíferos (Woods *et al.*, 1999; Dallas *et al.*, 2000; Takahashi *et al.*, 1998; Kühn *et al.*, 2002). En el campo de estudio de los mamíferos los primers específicos utilizados son el SryB3-B5. Estos marcadores han sido efectivos para la identificación del sexo en mamíferos (Pilgrim *et al.*, 2005; Villensen & Fredsted, 2006), incluyendo camélidos sudamericanos (Montenegro *et al.*, 2012; Agapito *et al.*, 2008; Marín *et al.*, 2009; Drew *et al.*, 1999).

## GENÉTICA Y GEOGRAFÍA

La distribución y diversidad de una población son características influenciadas por procesos históricos y ecológicos, ya que estos fenómenos causan expansión y contracción en las poblaciones (Hewitt, 2004) modelando los patrones de diversidad que se observan en la actualidad. Estos patrones pueden ser contrastados y explicados por las características geográficas tanto a un nivel temporal histórico como reciente. Este último ha sido el campo de estudio de la disciplina denominada genética del paisaje, que integra la genética de poblaciones, ecología del paisaje y la estadística espacial (Manel *et al.*, 2003; Holderengger & Wagner, 2008).

Desde el punto de vista de la genética del paisaje, las “discontinuidades genéticas” se correlacionan con las características espaciales como barreras (*e.g.* montañas, gradiente de humedad, etc.) proporcionando información de la interacción entre las características del paisaje y procesos microevolutivos, tales como flujo de genes, deriva génica y selección (Manel *et al.*, 2003), resolviendo subestructuras poblacionales a través de diferentes escalas geográficas y a niveles taxonómicos finos (Smouse & Peakall, 1999). Hasta ahora la mayoría de los estudios de genética del paisaje utilizan las distancias genéticas entre las poblaciones para estimar el flujo de genes entre ellas. Sin embargo, las distancias genéticas reflejan principalmente patrones de flujo histórico y pueden no ser siempre indicativos de patrones de flujo de genes en los paisajes contemporáneos, aunque tienden a ser concordantes con estos últimos (Manel & Holderegger, 2013).

En la actualidad es fácil encontrar trabajos que se han dedicado a estudiar los patrones genéticos en relación al espacio geográfico y las características de este (tales como barreras y fluctuaciones paleoclimáticas). Junto con lo anterior existe una serie de investigaciones que contrastan y complementan patrones genético-espaciales basados en evidencia tanto mitocondrial como nuclear (e.g., Napolitano *et al.*, 2013; Flanders *et al.*, 2009; Godinho *et al.*, 2008; Jezkova *et al.*, 2015), concluyendo en un mejor entendimiento de las reales respuestas de las poblaciones a raíz de las características geográficas tanto históricas como recientes aun cuando las respuestas de los marcadores mitocondriales no sean concordantes con los nucleares (Jezkova *et al.*, 2015), ya sea por el modo de herencia y/o las distintas tasas de mutación de estos.

## LA VICUÑA, ORIGEN Y CLASIFICACIÓN

Los ancestros de la familia Camelidae tienen su origen en Norte América durante el Eoceno medio hace 40-45 millones de años (MA) (Webb, 1974). Comparado con otros herbívoros, los camélidos fueron relativamente raros durante el Eoceno, pero en el Mioceno se volvieron los herbívoros grandes más comunes de Norteamérica, para terminar extintos durante el Pleistoceno tardío, como la mayoría de la megafauna del continente. Antes de desaparecer, sin embargo, dos taxa originados en Norteamérica hace 11 MA (Harrison, 1979; Webb, 1974) habrían migrado para formar las tribus *Camelini* y *Lamini*. Cinco MA atrás, representantes de la tribu *Camelini* habrían migrado a Asia y África dando origen a los actuales camello (*Camelus bactrianus*) y dromedario (*Camelus dromedarius*) (Kozhamkulova, 1986). Posteriormente (hace 3 MA), un representante de la tribu *Lamini*, presumiblemente *Hemiauchenia* y *Paleolama*, habrían migrado a Sudamérica a través del istmo de Panamá, durante el gran intercambio faunístico americano (Webb, 1974). *Hemiauchenia* o sus descendientes habría dado origen a los actuales géneros *Lama* y *Vicugna* hace unos 2 MA atrás (Wheeler, 2006).

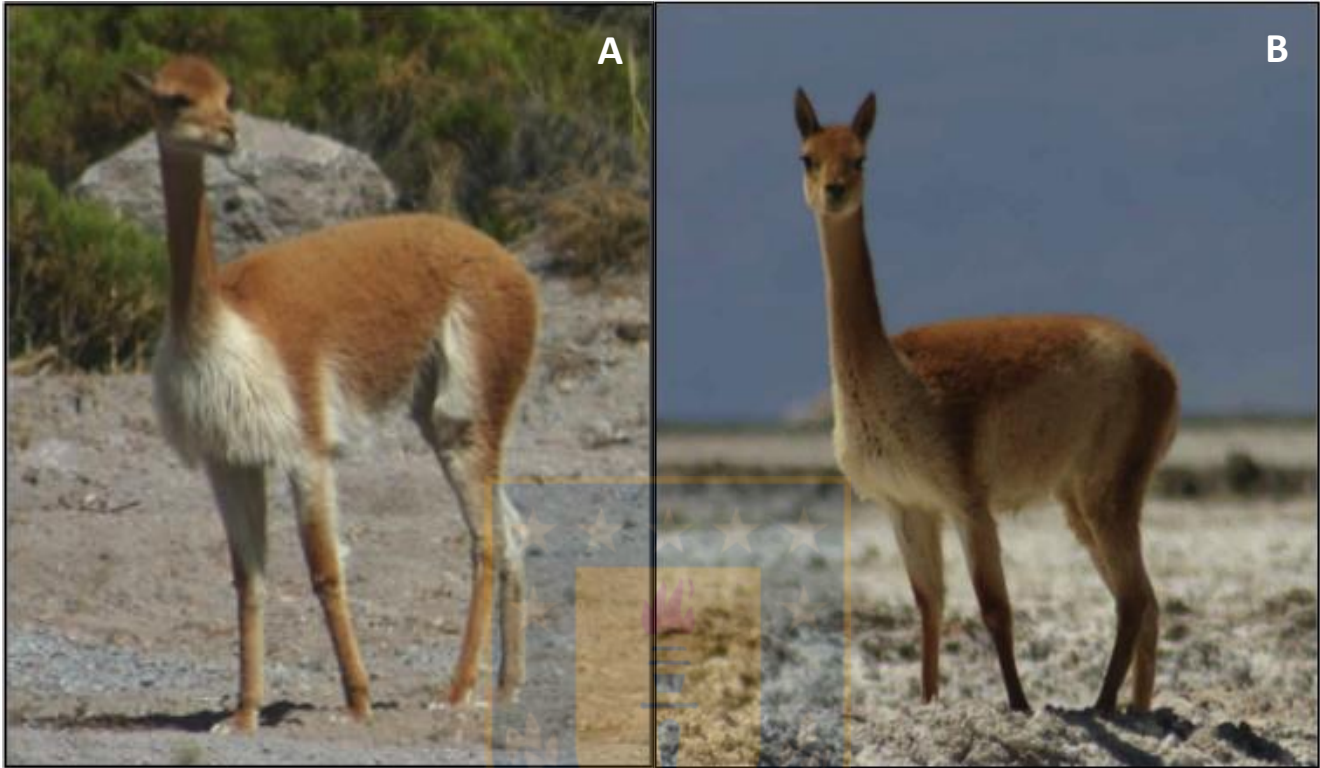
Entre estos, la vicuña es el más pequeño de los camélidos sudamericanos que existe en la actualidad y la única especie silvestre del género *Vicugna*. En la especie *V. vicugna*, se distinguen dos subespecies, en primera instancia distinguibles por características morfológicas (Wheeler, 1995) y posteriormente por análisis de DNA (Marín *et al.*, 2007); la subespecie del norte, *Vicugna vicugna mensalis* (Thomas,

1917) se encuentra actualmente entre los 9°30' y 18°S, mientras que la subespecie del sur *Vicugna vicugna vicugna* (Molina, 1782) se encuentra entre los 18° y 29°S.

Morfológicamente, la subespecie del norte, *V. v. mensalis* es, en general, más pequeña que *V. v. vicugna*, con una altura de unos 70 cm y 90 cm respectivamente, al igual que la longitud de los molares, siendo de unos 45 mm y 57 mm respectivamente (Wheeler & Laker, 2009). Otra diferencia es el mayor crecimiento del vellón en el pecho en *V. v. mensalis*, un color canela oscuro del pelo sobre la cabeza, cuello, parte dorsal y cola, y pelo blanco en la parte inferior de la cara, pecho, vientre y superficie inferior de las piernas y superficie ventral de la cola. Por el contrario, *V. v. vicugna* carece del vellón del pecho, con una coloración más tenue, con pelaje beige y blanco más predominante, el que se levanta a la mitad de los lados a la altura media de las costillas cubriendo todo el camino de la cresta iliaca, además de la porción anterior de las patas traseras (Wheeler & Laker, 2009) (figura 1).

Por su parte la clasificación sistemática de la especie *Vicugna vicugna* se remonta en primera instancia al trabajo de Carolus Linnaeus, quien describió inicialmente a las especies domésticas llama y alpaca como *Camelus glama* y *Camelus pacos*. Posteriormente se denominaron a los silvestres guanaco y vicuña *Camelus guanicoe* por Müller (1776) y *Camelus vicugna* por Molina (1782) respectivamente. Sin embargo, posteriormente Cuvier (1800) asigna el género *Lama* para los cuatro camélidos sudamericanos (Hemming, 1958), incluida la vicuña, siendo separada en un género propio por Miller en 1924 como *Vicugna*, obteniendo entonces la denominación actual de *Vicugna vicugna* Molina, 1782.

Más tarde al género *Vicugna* se incorporaría el presumible descendiente doméstico de la vicuña, la alpaca; *Vicugna pacos*, apoyado entre otras, por evidencia genética aportadas por Kadwell *et al.* (2001).



Fuente: Fotografías de J. C. Marín.

Figura 1. Fotografías de representantes de subespecies de vicuña A: *Vicugna vicugna mensalis* del Sector de “Las Cuevas”, Parque Nacional Lauca, Chile; B: *Vicugna vicugna vicugna* de Salar de Ascotán, Chile.

## DISTRIBUCION Y HÁBITAT DE LA VICUÑA

La vicuña es una especie pastoreadora, principalmente de gramíneas perennes (Wheeler, 1991), con una distribución actual restringida a los ecosistemas puneños y altoandinos entre los 3500 y 4800 metros sobre el nivel del mar (msnm) en Perú, Bolivia, Argentina y Chile, entre los 9° 30' y 29° S (Bonavia, 1996). Con una zona de contacto entre ambas subespecies alrededor del paralelo 18° S. Recientemente algunas vicuñas importadas de Perú, Chile y Bolivia han sido introducidas a las alturas de Cotopaxi, Ecuador. Sin embargo, hasta el momento no existen evidencias paleontológicas (Hoffstetter, 1986) ni arqueozoológicas (Miller & Gill, 1990) de que esta especie haya habitado esta zona con anterioridad (Wheeler, 2006). La distribución histórica de la especie pudo ser más amplia, con presencia incluso hasta la Patagonia Chilena y Tierra del Fuego (Weinstock *et al.*, 2009). Sin embargo esta hipótesis es discutible ya que el registro es escaso y con certeza solo habría presencia de restos en las áreas actuales de su distribución (Cajal *et al.*, 2010).

Las condiciones ambientales de su hábitat se caracterizan por condiciones hostiles debido a que se localiza a una altura que bordea los 4000 msnm. La presión barométrica, y la presión parcial del oxígeno y de dióxido de carbono, se reducen aproximadamente a un 40% con relación a los valores a nivel del mar. La temperatura media anual de 8 °C con una fluctuación diaria de 17 °C y con heladas unas 300 noches al año (Troll, 1968; Winterhalder & Thomas, 1978). El promedio de precipitación anual disminuye de Norte a Sur y de Este a Oeste a lo largo y ancho de los Andes. Los totales varían de 0 hasta 1000 mm según el lugar y tres cuartas partes de la precipitación normalmente caen durante los meses de Octubre a Marzo, mientras que los meses secos de Marzo a Octubre, se caracterizan por una mayor variación de temperatura diurna y mayor número de noches con heladas. El comienzo e intensidad de las lluvias en la puna varia de año en año y se presentan grandes sequias, a menudo relacionadas con las anomalías climáticas de El Niño (Wheeler, 2006).

## ORGANIZACIÓN SOCIAL Y REPRODUCCIÓN

La vicuña presenta una organización social caracterizada por grupos familiares conformados por un macho líder, cuatro a cinco hembras y sus crías de un año, grupos de machos solteros (con o sin líder), y animales solitarios (Hoffmann *et al.*, 1983). El macho líder es quien defiende el territorio y corteja y se reproduce con las hembras que acceden a su territorio (Bosch & Svendsen, 1987). La mayoría de las hembras están preparadas para la reproducción a los dos años y producen su primera cría a los tres años



de edad con un periodo de gestación que varía entre 330 y 350 días. En Perú la parición es entre Febrero y Abril, con una concentración en Marzo (Koford, 1957; Franklin, 1982), mientras que en las poblaciones del sur la mayoría de los nacimientos ocurren durante Febrero (Vilá, 2000). Las crías pesan entre 4-6 kg (Franklin, 1982) y son expulsadas por el macho al menos en los primeros 8 meses de vida (Franklin, 1978; Koford, 1957). Así las hembras formarán parte de nuevos grupos familiares y los machos tropillas de machos solteros.

El éxito reproductivo de una hembra depende de su habilidad para proveer energía y nutrientes a sus crías durante la gestación y lactancia (Bosch & Svendsen, 1987). Es probable entonces que los machos sean más filopátricos y que las hembras se dispersen en busca de oportunidades reproductivas, dado que el tamaño del grupo es estrictamente regulado por machos adultos territoriales (Franklin, 1982). Sin embargo, en estudios posteriores al de Franklin (1982) se evidenciaron superposiciones del área territorial de los harenes (Vilá, 1994; Arzamendia & Vilá no publicado, en Cassini *et al.*, 2009) por lo que la territorialidad no es fuertemente defendida como inicialmente lo indicó Franklin (1982) (Cassini *et al.*, 2009).

En relación a los machos solteros, estos son fuertemente rechazados por los machos del harem (Koford, 1957; Franklin, 1974; Vilá, 1995), lo que sugiere que los machos (en especial los solteros) son quienes tendrían un mayor desplazamiento geográfico que las hembras, por lo que el conocimiento de la estructura espacial genética sumado a la variación de esta entre sexos, pueden proporcionar importantes pistas acerca de estos patrones de dispersión y determinar la fuerte o débil filopatría sexo-específica de cada uno de los sexos y la dispersión al azar del sexo alternativo (Chesser, 1991), dando lugar además, a diferentes patrones de estructura genética entre sexos.

## DIVERSIDAD GENÉTICA

El proceso provocado por la desaparición del 99% de la población existente desde la llegada de los españoles que a mediados del siglo XX llevó a la vicuña al borde de la extinción, ha dejado su huella en una reducida variabilidad genética (Wheeler *et al.*, 2001). Aunque altos niveles de diversidad genética entre las poblaciones de vicuñas de Perú han sido detectados, los bajos niveles de diversidad genética intrapoblacionales, mediante el uso de marcadores microsatélites y secuencia parcial del gen

para citocromo *b* son evidencia de las drásticas reducciones de tamaño poblacional sufrido la especie en el pasado (Wheeler *et al.*, 2001; Kadwell *et al.*, 2001).

Por su parte Sarno *et al.* (2004) analizando tres poblaciones bolivianas y una chilena, encontraron niveles de flujo génico restringidos y niveles moderados de diferenciación genética poblacional, además de diferenciación insuficiente en el ADN para justificar su separación en subespecies. Por otra parte, Marín *et al.* (2007) con la utilización de mtDNA encuentran menor diversidad genética en las poblaciones del norte que las del sur, probablemente debido a que las poblaciones de la distribución norte estuvieron mayormente afectadas por el cuello de botella antes mencionado. Por otro lado, además logran distinguir una clara divergencia entre las dos subespecies (*V. v. mensalis* y *V. v. vicugna*) influida por una zona extremadamente seca denominada “diagonal árida”.

## NÚMERO POBLACIONAL Y CONSERVACIÓN

La vicuña ha sufrido grandes variaciones en su número poblacional. Durante el siglo XVI se registró un número total de la especie de 4 millones de individuos (Koford, 1957), que luego disminuye a 400 mil a inicios de la década del 1950 debido a la caza comercial por su fibra (Koford, 1957; Franklin, 1982). A fines de la década de 1960 había unos 2000 ejemplares conjuntamente en Bolivia, Chile y Argentina y entre 5000-10000 en Perú (Rabinovich *et al.*, 1991). Afortunadamente los planes de conservación exitosos habrían salvado a las poblaciones de vicuña de la extinción (Bonacic *et al.*, 2002). Actualmente se estima una población de unos 276000 individuos (Wheeler, 2006) siendo clasificada el año 2008 como especie con Preocupación Menor por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN).

Desde esta perspectiva, la vicuña (*Vicugna vicugna* Molina, 1782) es una especie interesante de analizar desde un punto de vista genético-espacial para comprender si es que las características genéticas actuales de sus poblaciones se han delineado en torno al efecto de las características del paisaje de su actual distribución y/o los efectos antrópicos recientes.

Un análisis actualizado del estado genético de las poblaciones de vicuña puede ser un aporte valioso para al conocimiento de la especie a una escala microevolutiva, ya que permitiría comprender como los patrones de distribución y diversidad genética de sus poblaciones se pueden relacionar con factores

geográficos, ambientales y humanos. Consecuentemente, estos antecedentes debieran ser considerados en la implementación de futuros planes de conservación de la vicuña, para de este modo, focalizar los esfuerzos de manera coherente y eficaz en aquellas poblaciones que así lo requieran.



## **OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la estructura genética actual de 23 poblaciones de las subespecies *Vicugna vicugna mensalis* y *Vicugna vicugna vicugna*, y evaluar cómo las características espaciales y el efecto antrópico explican los actuales patrones genéticos de la especie, usando marcadores biparentales.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Establecer la estructura poblacional de *V. vicugna* analizando la variación alélica de 15 loci microsatélites.
2. Conocer la autocorrelación espacial de individuos de *V. vicugna*, a nivel de especie, subespecie y entre sexos.
3. Relacionar las características ambientales contemporáneas de altitud, precipitaciones y temperatura con los actuales patrones de diversidad y estructura genética de *V. vicugna*.
4. Determinar “cuellos de botella” y expansiones recientes en las poblaciones de *V. vicugna*.
5. Identificar las “unidades de conservación y/o manejo” entre las poblaciones de *V. vicugna*.

## **HIPÓTESIS:**

1. La variación alélica de 15 loci microsatélites es congruente con la división subespecífica de *Vicugna vicugna* descritas con marcadores mitocondriales, ya que la divergencia entre las subespecies se ha mantenido en el tiempo con escaso flujo entre ellas.
2. *Vicugna vicugna mensalis* presenta bajos índices de diversidad genética intrapoblacional y baja estructuración entre sus poblaciones, debido a reducciones demográficas recientes producidas con mayor intensidad sobre las poblaciones de dicha subespecie.
3. El macho de *Vicugna vicugna* tiene una mayor distancia de autocorrelación espacial debido a que es más vágil que la hembra, puesto que existe una estructura social que impulsa a los machos solteros a la búsqueda de recursos para reproducirse.
4. El ambiente seco y homogéneo, y la mayor distancia geográfica entre los grupos de *Vicugna vicugna vicugna*, causan una mayor distancia genética entre las poblaciones y bajos índices de diversidad genética dentro de las poblaciones.

## METODOLOGÍA

### MUESTRAS Y GENOTIPIFICACIÓN

Muestras de vicuñas de 23 localidades de Perú, Argentina y Chile (Tabla 1, Figura 2) fueron colectadas a través de 5 métodos alternativos: (1) con la captura de animales silvestres para la esquila (chaku), (2) con la inmovilización química de animales silvestres, (3) desde animales en cautiverio y semicautiverio, (4) con la detección en terreno de animales muertos, y (5) con la colecta de fecas frescas. Dichas muestras fueron colectadas y facilitadas por el Dr. Juan Carlos Marín, académico de la Universidad del Biobío y la Dra. Jane Wheler, CONOPA entre los años 1995 y 2015.

El DNA genómico de estos tejidos, por su distinta naturaleza, fue extraído por tres métodos alternativos: (1) a partir de sangre usando un método no enzimático, (2) desde músculo y/o piel usando fenol-cloroformo, y (3) desde fecas con el uso del kit comercial QIAGEN QIAamp<sup>®</sup> DNA Stool Mini (Qiagen Ltd., Crawley, UK) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para cada una de las 307 muestras utilizadas en este estudio se amplificaron las regiones de 15 loci microsatélites altamente polimórficos en camélidos sudamericanos: YWLL08, YWLL29, YWLL36, YWLL38, YWLL40, YWLL43, YWLL46 (Lang *et al.*, 1996), LCA5, LCA19, LCA22, LCA23 (Penedo *et al.*, 1998), LCA65, LCA82 (Penedo *et al.*, 1999), LGU49 y LGU68 (Sarno *et al.*, 2000).

Adicionalmente se determinó el sexo de los individuos con el uso de marcadores específicos para los cromosomas sexuales utilizando varias combinaciones de primers: zfx2 y zfx4 para un segmento del cromosoma X, el cual se debe visualizar en los dos sexos; zfx2 y zfy2, para la amplificación de un segmento en el cromosoma Y, solo en machos. Adicionalmente se utilizó la combinación SryB3-B5 (Pomp *et al.*, 1995) para la amplificación de segmento del cromosoma Y. El sexo de los individuos se asignó mediante observación directa de las bandas amplificadas en los geles de agarosa una vez realizada la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Con cada individuo fue utilizado el conjunto de marcadores de los cromosomas sexuales, de manera de disminuir la probabilidad de que un macho sea identificado como hembra.

La reacción de PCR tanto para conseguir los datos microsatélites como la determinación del sexo fue de 10 ng de DNA total, 2,5 uL de 10x buffer Gold, 200 mM de cada dNTP, 10 pM de cada primer (con

el primer forward marcado con fluorescencia), 2 mM MgCl<sub>2</sub>, y 1.5 U de AmpliTaq Gold polymerase (Applied Biosystems) en 25 mL de volumen total. Los tubos con la reacción fueron sometidos a una temperatura de 95 °C por 15 min, seguidos por 35 ciclos a 94 °C por 30 seg, una temperatura de alineamiento de 60 °C por 1 min 30 seg, y 72 °C por 1 minuto. La temperatura del paso final fue extendida por 30 min a 60 °C. Para las muestras de fecas los procedimientos fueron repetidos dos o tres veces para asegurar una correcta amplificación de los fragmentos.

Los fragmentos del producto de PCR se analizaron con ABI Prism® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), y los fragmentos medidos usando el software Genemarker Version 1.70 (SoftGenetics). Posteriormente se realizó la búsqueda de muestras procedentes del mismo individuo con el complemento de Excel Microsatellite Toolkit (Park, 2001) y la presencia de alelos nulos con el software Micro-Checker versión 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004).

## DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL

Una vez determinados los genotipos se procedió a asignar las localidades muestreadas a poblaciones o “clusters” para sus posteriores análisis, para lo cual se realizaron agrupamientos con dos procedimientos distintos. En primer lugar se realizó un procedimiento basado solo en los genotipos de los individuos con el software STRUCTURE 3.2 (Pritchard *et al.*, 2000) y en segundo lugar, un análisis con Geneland 3.2.2 (Guillot *et al.*, 2005), que además de considerar los genotipos considera la posición geográfica de los individuos.

Para el análisis con STRUCTURE se utilizó el modelo admixture con un número posible de poblaciones K fijado entre 1 – 23, una vez determinado el análisis se repitió con un número de K fijado entre 1 – 10; por último uno entre 1 – 5. Para cada corrida se realizaron 10 réplicas. Se fijaron los parámetros de 5000000 de iteraciones de MCMC y un burn-in de 250000. Se determinó el número de poblaciones K más probable con el método de delta K de Evanno (Evanno *et al.*, 2005) implementado en STRUCTURE HARVESTER (Earl & vonHoldt, 2012). Con este método, se considera el mayor delta-K como el índice del número de poblaciones más probable. Los resultados fueron útiles para ser complementados con los obtenidos con Geneland.

Para el análisis con Geneland, el número de poblaciones (K) fue determinado con 10000000 iteraciones MCMC, guardando cada 1000, una tasa máxima del proceso de Poisson fijado en 307, un K mínimo y máximo de 1 y 23 respectivamente, un número máximo de núcleos en el teselado de Posson-Voroni de 921 y un burn-in de 2000 en el post procesamiento. Se realizó el análisis con el método correlacionado, el cual es descrito por los autores del paquete estadístico como un método biológicamente más real. Este además realiza el análisis a una escala más fina que el modelo no correlacionado, por lo que podría detectar de mejor manera las poblaciones para la especie. Las poblaciones asignadas con este modelo son las que se utilizan para los análisis a nivel poblacional y cada una de ellas es nombrada numeradamente con el prefijo “M” para la subespecie *V. v. mensalis* y “V” para las poblaciones de *V. v. vicugna*.

Para las poblaciones asignadas con STRUCTURE y Geneland se calcularon los índices de diversidad genética correspondientes a: promedio de número de alelos por locus (A), heterocigosis esperada (He), heterocigosis observada (Ho), Alelos privados y equilibrio de Hardy-Weinberg con el software ARLEQUIN v3.5 (Excoffier *et al.*, 1992, 2005). Los coeficientes de endogamia (Fis) fue estimado según Weir & Cockerham (1984) con FSTAT 2.9.4 (Goudet, 2005), estimando el déficit o exceso de heterocigotos dentro de las poblaciones, donde valores positivos indican déficit de heterocigotos y un mayor grado de endogamia, mientras que los valores negativos un exceso de heterocigotos y menor endogamia.

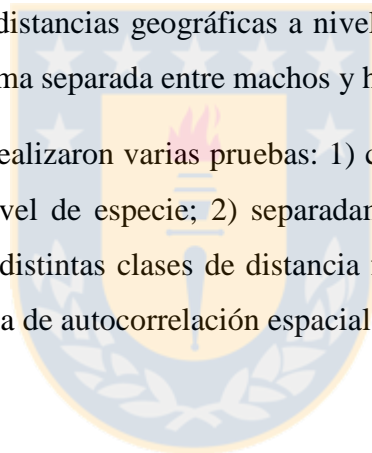
Usando BayesAss 3.0 (Wilson & Rannala, 2003; Rannala, 2007) se calculó el flujo genético por generación entre pares de poblaciones. Este análisis indica los migrantes recientes entre pares de poblaciones en forma bidireccional, expresado en la frecuencia de individuos que se desplazan entre cada población por generación. El análisis, además de realizarlo entre pares de poblaciones, se realizó entre la Zona Híbrida (definida más adelante) y las subespecies *V. v. mensalis* y *V. v. vicugna*. Junto con lo anterior, para estimar de la diferenciación genética se realizó un análisis de estructuración (FST) entre pares de poblaciones de cada subespecie. Este es un estimador de la diferenciación genética, donde los valores significativamente diferentes de 0 indican escaso flujo génico y por ende una mayor distancia a medida que los valores se acercan a 1.

Posteriormente, considerando la distribución en dos grupos en STRUCTURE coincidentes con las dos subespecies de vicuña, se seleccionaron 70 individuos de los que consiguen tener los genotipos más

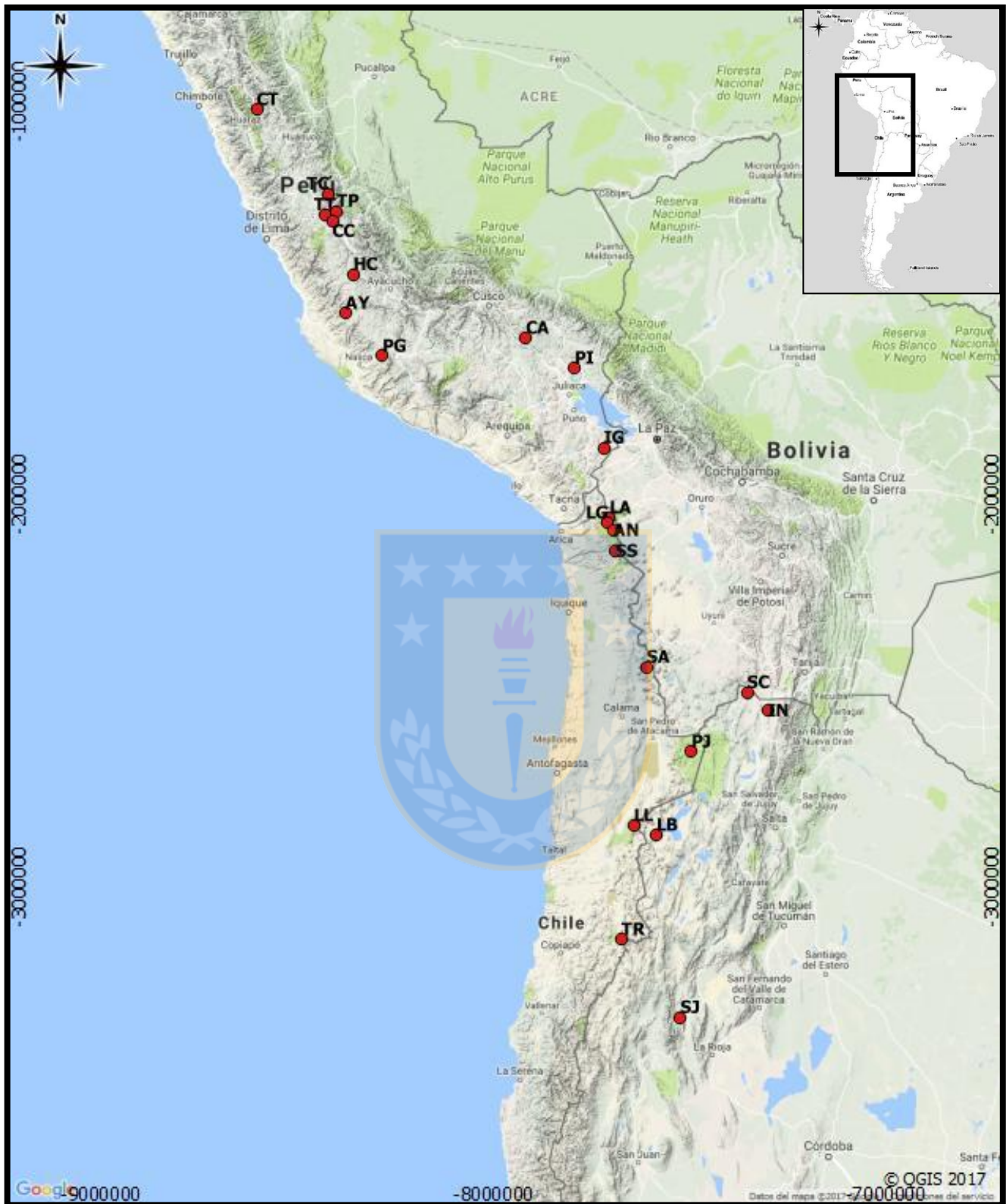
puros para las dos subespecies. Posteriormente, se simuló una población híbrida con el software HybridLab 1.0 (Nielsen *et al.*, 2006), con el objetivo de delimitar una posible Zona Híbrida o de contacto entre las dos subespecies. Con esta población simulada se realizó un test de asignación poblacional para cada individuo, considerando como opciones: *Vicugna vicugna mensalis*, *Vicugna vicugna vicugna* y el grupo de *Híbridos* establecido con HybridLab 1.0. Además de identificar la Zona Híbrida se determinó la tasa de migración de las poblaciones más próximas de *V. v. mensalis* y *V. v. vicugna* a la zona híbrida, usando BayesAss 3.0; permitiendo determinar la intensidad y el sentido de las migraciones recientes.

Por último, para conocer aspectos de la dinámica poblacional de la especie, se realizó un análisis de autocorrelación espacial con Genalex 6.5 (Peakall & Smouse, 2012), un complemento para el análisis de datos genéticos también implementado en Excel. Para ello se utilizó dos matrices de distancia: una con distancias genéticas y otra con distancias geográficas a nivel individual. Este análisis se realizó a nivel de especie, subespecie y en forma separada entre machos y hembras.

Para llevar a cabo estos análisis se realizaron varias pruebas: 1) con todos los individuos para conocer la distancia de autocorrelación a nivel de especie; 2) separadamente entre machos y hembras; y 3) separando las dos subespecies. Las distintas clases de distancia fueron fijadas en intervalos variables para encontrar una distancia adecuada de autocorrelación espacial.







Fuente: Elaboración propia.

Figura 2. Localidades muestreadas de *Vicugna vicugna* distribuidas a lo largo de su distribución actual. Se indica la ubicación y la abreviatura de cada localidad (ver Tabla 1).

Tabla 1. Localidades analizadas (entre paréntesis abreviaturas), subespecie a la que pertenece, tipo de muestra (S: sangre; P: piel; M: músculo; F: feca), total de individuos, sexos identificados por localidad: MACHOS, HEMBRAS o INDEFINIDOS (individuos cuyo sexo no pudo ser identificado) y coordenadas geográficas de cada localidad.

LOCALIDAD	SUBESPECIE	TIPO DE MUESTRA	TOTAL (N=307)	MACHOS (N=159)	HEMBRAS (N=116)	INDEFINIDOS (N=32)	COORDENADAS
Catac, Ancash; Perú (CT)	Vvm	S	11	6	5	0	09°08'00" S, 77°17'00" W
Tinco Cancha, Junín; Perú (TC)	Vvm	S	6	1	5	0	11° 02'00" S, 75° 38'00" W
Tinco Paccha, Junín; Perú (TP)	Vvm	S	5	1	4	0	11° 25'00" S, 75° 27'00" W
Tarmatambo, Junín; Perú (TT)	Vvm	S	8	5	3	0	11° 30'00" S, 75° 43'00" W
Santo Domingo de Cachi Cachi, Junín; Perú (CC)	Vvm	S	8	0	8	0	11° 38'00" S, 75° 33'00" W
San Pedro de Huacarpana, Ica; Perú (HC)	Vvm	S	7	0	7	0	12° 50'00" S, 75° 04'00" W
Ayavi-Tambo-Huaytará, Huancavelica; Perú (AY)	Vvm	S	8	3	5	0	13° 42'00" S, 75° 15'00" W
Reserva Nacional de Pampa Galeras, Ayacucho; Perú (PG)	Vvm	S	15	4	11	0	14° 39'00" S, 75° 24'54" W
Cerro Azul, Cuzco; Perú (CA)	Vvm	S	17	9	8	0	14° 15'00" S, 71° 07'00" W
S.A.I.S. Picotani, Puno; Perú (PI)	Vvm	S	7	4	3	0	14° 55'00" S, 70° 00'00" W
Ingenio Huacullani, Puno (IG)	Vvm	S	16	10	6	0	16° 40'00" S, 69° 20'00" W
Parque Nacional Lauca; Chile (LA)	Vvm	P, S	29	25	3	1	18° 12'00" S, 69° 12'00" W
Lagunillas; Chile (LG)	Vvm	S	16	9	4	3	18° 18'39" S, 69° 14'18" W
Corral Ankara, Ankara; Chile (AN)	Vvm	S	9	5	3	1	18° 28'00" S, 69° 07'00" W
Salar de Surire; Chile (SS)	Vvm	S	17	13	0	4	18° 55'00" S, 69° 04'00" W
Salar de Ascotán; Chile (SA)	Vvv	F	28	13	8	7	21° 24'35" S, 68° 21'11" W
Santa Catalina, Jujuy; Argentina (SC)	Vvv	S	21	8	12	1	21° 57'00" S, 66° 03'12" W
INTA Abrapampa, Jujuy; Argentina (IN)	Vvv	S	33	13	10	10	22° 20'00" S, 65° 35'00" W
Paso Jama; Chile (PJ)	Vvv	F	4	4	0	0	23° 12'12" S, 67° 19'29" W
Parque Nacional Llullaillaco; Chile (LL)	Vvv	S	10	7	3	0	24° 44'53" S, 68° 38'47" W
Laguna Blanca, Catamarca; Argentina (LB)	Vvv	S	18	11	5	2	24° 57'37" S, 68° 07'43" W
Parque Nacional Nevado Tres Cruces; Chile (TR)	Vvv	M, F, P	11	6	2	3	27° 05'29" S, 68° 55'53" W
San Juan; Argentina (SJ)	Vvv	S	3	2	1	0	28° 40'00" S, 67° 35'00" W

Fuente: Elaboración propia.

## DIVERSIDAD GENÉTICA Y CONDICIONES AMBIENTALES

Se realizó un análisis de correlación entre diversidad genética y diversidad ambiental, considerando la heterocigosidad esperada como estimador de la diversidad genética para cada localidad, este índice es considerado como un indicador razonable de la variación genética dentro de las poblaciones (Cavalli-Sforza, 1998; Nei, 1987).

Para determinar las condiciones ambientales de las localidades se descargaron las capas ambientales actuales de: temperatura promedio, precipitaciones anuales y altitud de la zona 33 disponible en la base de datos WorldClim ([www.worldclim.org](http://www.worldclim.org)), ya que esta zona es la que corresponde a la distribución actual de *V. vicugna*. Estas capas o factores ambientales, junto con las coordenadas geográficas de las localidades analizadas, fueron ingresadas en el software QGIS 2.12.2 (disponible en <http://www.qgis.org>) para ser extraídos los valores ambientales de cada localidad. En el caso de las precipitaciones mensuales se sumaron para obtener un total anual, mientras que en el caso de las temperaturas mensuales fueron promediadas.

Una vez disponibles los valores de  $H_e$ , altitud, precipitación anual y temperatura anual, se realizó un análisis de correlación de Pearson con XLSTAT 18.06 (Addinsoft, New York, USA), un complemento de Excel para análisis estadísticos. Para este análisis se comparan todos los valores obtenidos entre sí, de esta forma se pueden conseguir los valores de correlación y la significancia estadística para cada par de variables (diversidad genética vs factores ambientales), para así evaluar la incidencia de alguno de los factores ambientales en el grado de diversidad genética de las poblaciones de *V. vicugna*.

## CUELLOS DE BOTELLA

Se estimó la presencia de posibles cuellos de botella con el software Bottleneck 1.2.0.2 (Piry *et al.*, 1999), detectando un exceso significativo en la heterocigosidad esperada usando el test de Wilcoxon para los modelos de mutación: alelos infinitos (IAM), dos fases (TPM) y el modelo escalonado (SMM). Para el modelo TPM se fijó una probabilidad de 95% y una varianza = 12. Estos parámetros son recomendados para microsatélites (e.g. Bush *et al.*, 2007). Adicionalmente se utiliza el otro indicador de cuellos de botella que señala si las distribuciones de las frecuencias alélicas se asemejan a un modelo de tipo L, que se espera en un escenario de equilibrio mutación-deriva, o se diferencia

significativamente de este, indicando la ocurrencia de un reciente cuello de botella (Piry *et al.*, 1999). Para el análisis se fijaron 1000 iteraciones y se realizó tanto para las poblaciones, para la especie y las subespecies.

Para realizar un detalle acabado del estado de conservación y manejo de la especie, se consideraron los resultados de los análisis de agrupamiento y diversidad para determinar las posibles poblaciones candidatas a “UM” y/o “ESU”.

En suma, los antecedentes recabados pueden dilucidar las poblaciones que deben ser foco de primordial de cuidado y en suma con los análisis de autocorrelación espacial, que además de otorgar datos relacionados con la biología de la especie, aportan antecedentes que permiten generar una mejor comprensión para la protección de áreas con una distancia mínima entre localidades para no provocar y/o evitar el aislamiento entre las poblaciones de *Vicugna vicugna*.



## RESULTADOS

### GENOTIPIFICACIÓN Y DIVERSIDAD GENÉTICA

Para las 307 muestras y 15 loci amplificados, se lograron detectar un 87,21% de alelos en total, los cuales incluyen la amplificación de los 15 loci para 88 individuos, 14 loci en 94 individuos, entre 10 y 13 loci para 96 individuos y entre 5 a 9 loci para 30 animales. En relación a la determinación del sexo de las muestras, se alcanzó un éxito de asignación para 275 individuos, lo que corresponde al 89,58% del total de las muestras. De estos 159 individuos fueron asignados como machos y 116 como hembras (Tabla 1). Se detectaron 195 alelos distintos en los 15 loci en los 307 individuos. El número de alelos por locus es de entre 5 a 23 siendo el menor número para YWLL46 y el mayor para LGU49.

Se encontraron altos niveles de diversidad genética en los clusters correspondientes a las dos subespecies (Tabla 2). Los valores de heterocigosidad observada y esperada corresponden a  $H_o=0,40$  y  $H_e=0,70$  para *Vicugna vicugna mensalis* y una  $H_o=0,37$  y  $H_e=0,74$  para *Vicugna vicugna vicugna*.

A nivel poblacional (Tabla 2), según las poblaciones delimitadas con Geneland, el número de alelos por locus varía entre 1,93 a 7,53; la  $H_o$  entre 0,33 y 0,50; la  $H_e$  0,27 y 0,70. Los coeficientes de endogamia fluctúan desde 0,43 a 0,63 y el número de alelos privados alcanza un máximo de 5 en la población V7.

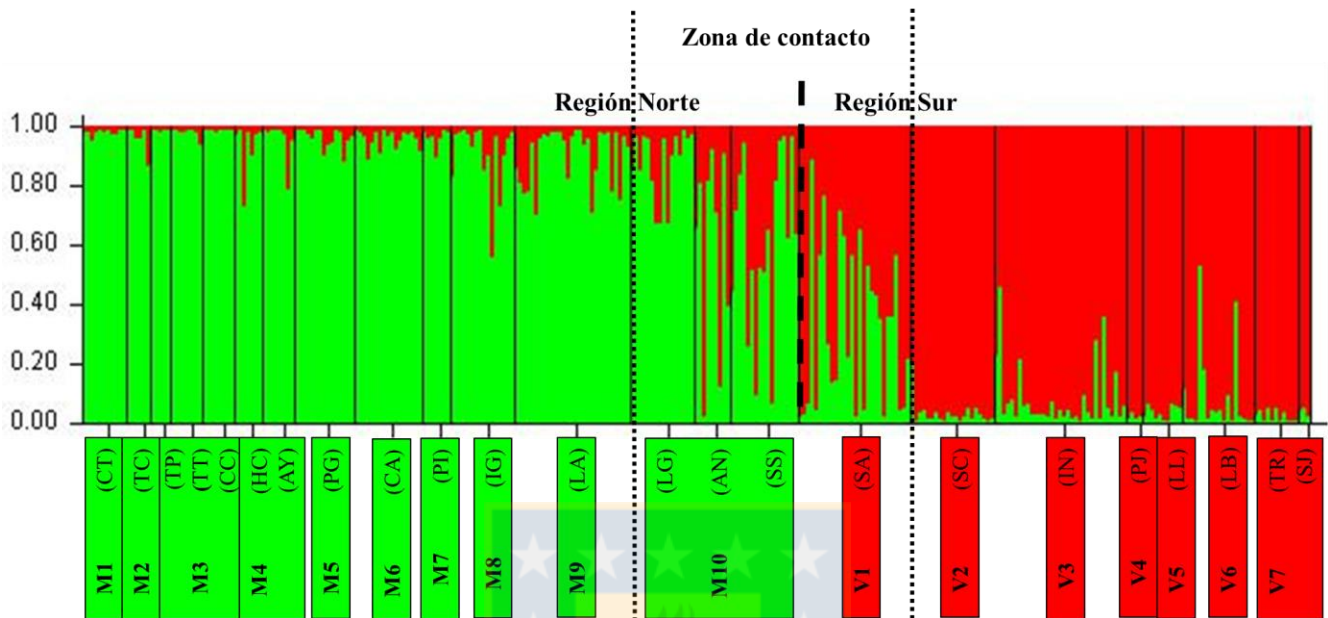
### ESTRUCTURA POBLACIONAL

Con el análisis de estructuración poblacional ejecutado con STRUCTURE y considerando el método de delta K de Evanno implementado en STRUCTURE HARVESTER, se asignó un  $K=2$ . Estos clusters resultantes dividen las poblaciones en dos grupos bien definidos, concordantes con las subespecies descritas *a priori*: Cluster Norte, compuesto por los individuos de las localidades CT, TC, TP, TT, CC, HC, AY, PG, CA, PI, IG, LA, LG, AN y SS; y el Cluster Sur compuesto por SA, SC, IN, PJ, LL, LB, TR y SJ. Las localidades SS y SA marcan los límites de los Clusters Norte y Sur respectivamente (figura 3).

Tabla 2. Índices de diversidad y desviación estándar (SD) genética por población y subespecies. Los índices de diversidad son A: Promedio de alelos por locus; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada, Fis: Índice de endogamia. Resultados de análisis de señales de cuello de botella con bottleneck según los modelos mutacionales IAM, SMM, TPM y L-Shift. Los índices significativos \* indican señal de reducciones demográficas recientes según el modelo, los índices no significativos (ns) indican ausencia de señal de reducción demográfica reciente según el modelo.

<b>Población</b>	<b>A ± SD</b>	<b>Ho ± SD</b>	<b>He ± SD</b>	<b>Fis</b>	<b>IAM</b>	<b>SMM</b>	<b>TPM</b>	<b>L-Shift</b>
<i>V<sub>vm</sub></i>	10,73 ± 4,96	0,40 ± 0,16	0,70 ± 0,18	0,424	*	ns	ns	ns
M1	1,93 ± 1,03	0,39 ± 0,25	0,27 ± 0,25	-0,140	ns	ns	ns	**
M2	3,20 ± 1,42	0,39 ± 0,26	0,52 ± 0,32	0,266	ns	ns	ns	ns
M3	3,67 ± 2,02	0,35 ± 0,25	0,47 ± 0,27	0,156	ns	ns	ns	ns
M4	5,00 ± 2,70	0,40 ± 0,24	0,61 ± 0,24	0,284	*	ns	ns	ns
M5	5,07 ± 2,25	0,50 ± 0,22	0,64 ± 0,21	0,133	*	ns	ns	ns
M6	4,87 ± 3,00	0,42 ± 0,27	0,53 ± 0,30	0,189	ns	ns	ns	ns
M7	3,07 ± 1,49	0,48 ± 0,25	0,52 ± 0,27	0,166	*	ns	ns	**
M8	5,73 ± 2,58	0,46 ± 0,23	0,64 ± 0,24	0,231	*	ns	ns	ns
M9	7,53 ± 3,58	0,38 ± 0,23	0,68 ± 0,19	0,364	ns	ns	ns	ns
M10	7,47 ± 2,88	0,43 ± 0,19	0,69 ± 0,18	0,302	*	ns	ns	ns
<i>V<sub>vv</sub></i>	11,33 ± 4,50	0,37 ± 0,16	0,74 ± 0,18	0,497	*	ns	ns	ns
V1	7,00 ± 3,40	0,35 ± 0,22	0,66 ± 0,23	0,354	ns	ns	ns	ns
V2	6,40 ± 2,06	0,36 ± 0,19	0,70 ± 0,14	0,398	*	ns	ns	ns
V3	6,33 ± 2,19	0,34 ± 0,21	0,66 ± 0,19	0,386	ns	ns	ns	ns
V4	2,20 ± 1,97	0,44 ± 0,41	0,47 ± 0,41	0,541	*	*	*	**
V5	4,13 ± 1,64	0,38 ± 0,23	0,61 ± 0,21	0,412	*	ns	ns	**
V6	5,13 ± 2,23	0,33 ± 0,23	0,66 ± 0,15	0,392	*	ns	ns	ns
V7	5,53 ± 2,13	0,48 ± 0,25	0,70 ± 0,19	0,231	*	ns	ns	ns

Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 3. Distribución de genotipos individuales mediante STRUCTURE con una asignación de  $k=2$ . Se indican los individuos pertenecientes al Cluster Norte (*V. v. mensalis*) en verde, Cluster Sur (*V. v. vicugna*) en rojo y además se indica la que corresponde a la Zona de contacto o Zona Híbrida con líneas punteadas detectada con HybridLab y el test de asignación. Se indican las poblaciones detectadas con Geneland y las localidades pertenecientes a cada población entre paréntesis.

Por otra parte, son 17 las poblaciones definidas por Geneland (figura 4), 10 correspondientes a la subespecie *V. v. mensalis*, o Cluster Norte, y 7 para la subespecie *V. v. vicugna* o Cluster Sur. Para efectos de esta investigación, la identificación de cada población se establece manteniendo el prefijo M y V para las poblaciones pertenecientes a las subespecies *V. v. mensalis* y *V. v. vicugna* respectivamente, por lo que las poblaciones quedan definidas en el Cluster Norte por: M1 (CT), M2 (TC), M3 (TP + TT + CC), M4 (HC + AY), M5 (PG), M6 (CA), M7 (PI), M8 (IG), M9 (LA) y M10 (LG + AN + SS); y para el Cluster Sur las poblaciones: V1 (SA), V2 (SC), V3 (IN), V4 (PJ), V5 (LL), V6 (LB) y V7 (TR + SJ).

Considerando los dos principales Clusters determinados con STRUCTURE y las poblaciones delimitadas con Geneland, se procedió a definir una Zona Híbrida entre las dos subespecies. Para lo cual se aplicó un procedimiento con HybridLab, seleccionando a 70 de los individuos con genotipos más puros tanto del Cluster Norte como del Cluster Sur, con los que se simuló una población híbrida. Al realizar el posterior análisis de asignación poblacional considerando solo tres opciones para cada individuo (Cluster Norte, Cluster Sur o Híbridos), se identificaron como resultado dos poblaciones con un mayor porcentaje de individuos asignados al Cluster Híbrido, correspondientes a M10 y V1 con un 45,2% y un 75% respectivamente de los individuos asignados a dicho grupo (Tabla 3).

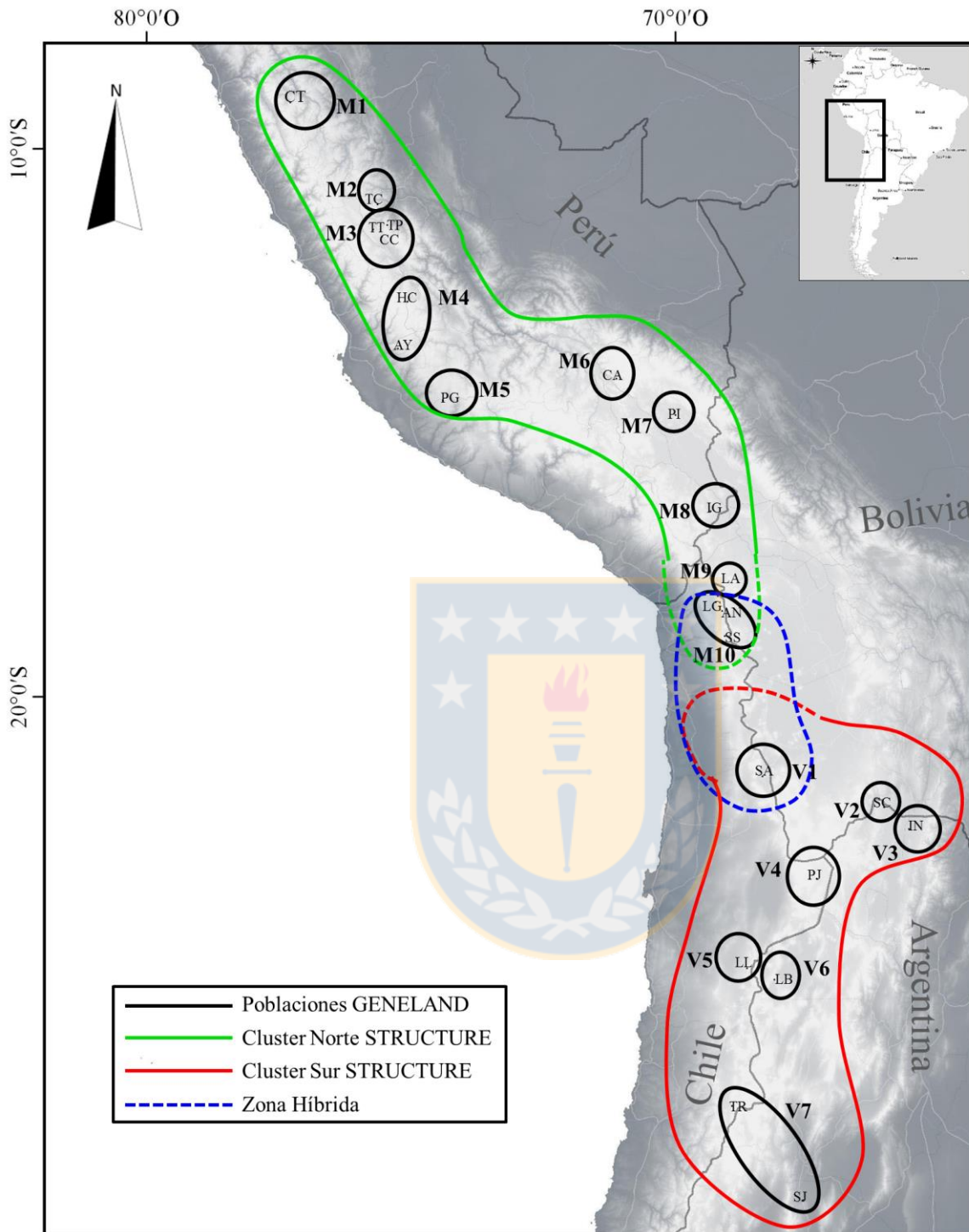
Los índices de estructuración genética  $F_{ST}$  calculados entre las poblaciones del Cluster Norte (Tabla 4) están entre 0,036 y 0,339, todos índices significativos; mientras que los índices de estructuración entre las poblaciones del Cluster Sur (Tabla 5) no superan los 0,121; con todos los índices significativos a excepción de los índices  $F_{ST}$  entre V4 y el resto de las poblaciones, cuyos índices son en su totalidad no significativos.

Las migraciones entre las poblaciones del Cluster Norte (Tabla 3) alcanzan una tasa máxima de 0,208 de los individuos por generación correspondientes a M8 que son provenientes de M5. Seguido por una tasa de 0,174; 0,11 y 0,105 de individuos de M4, M7 y M2 respectivamente, que sería provenientes de M9. Los otros índices no superan la tasa de 0,065 individuos por generación. Por otra parte, en las migraciones del Cluster Sur, el mayor índice se presenta en la población de V7 con una tasa de 0,150 individuos que serían provenientes de V5. Seguido por unas tasas de 0,146 y 0,104 de individuos de V4 y V7, respectivamente, provenientes de V6 por generación. El resto de los índices de migraciones no superan la tasa de 0,1 individuos por generación.



Las migraciones entre la Zona Híbrida con sus poblaciones vecinas (Cluster Norte: LA, IG; Cluster Sur: SC, PJ) también son bajas, encontrándose una tasa de individuos de un 0,0152 de la Zona Híbrida que son provenientes de la subespecie *V. v. vicugna* o Cluster Sur, mientras que una tasa de 0,0212 son provenientes de *V. v. mensalis* o Cluster Norte.





Fuente: Elaboración propia.

Figura 4. Poblaciones de la especie *Vicugna vicugna* asignadas con Geneland y localidades por cada población. Clusters Norte (línea verde) y Cluster Sur (línea roja) definidos por STRUCTURE. La Zona Híbrida, determinada con HybridLab y test de asignación poblacional, es representada con línea punteada azul.

Tabla 3: Asignación de individuos de cada población a los Cluster: *Vicugna vicugna mensalis* o Cluster Norte; *Vicugna vicugna vicugna* o Cluster Sur; o Híbrido. Se indica el porcentaje de individuos y entre paréntesis el número respectivo de ellos correspondiente a cada población. En negrita las poblaciones con mayor porcentaje de Híbridos.

POBLACIÓN	VVM	VVV	HIBRIDOS
M1	100,0 (11)	0	0
M2	100,0 (6)	0	0
M3	100,0 (21)	0	0
M4	93,3 (14)	0	6,7 (1)
M5	100,0 (15)	0	0
M6	94,1 (16)	0	5,9 (1)
M7	85,7 (6)	0	14,3 (1)
M8	81,3 (13)	0	18,7 (3)
M9	65,5 (19)	0	34,5 (10)
<b>M10</b>	<b>42,9 (18)</b>	<b>11,9 (5)</b>	<b>45,2 (19)</b>
<b>V1</b>	<b>3,6 (1)</b>	<b>21,4 (6)</b>	<b>75,0 (21)</b>
V2	0	100,0 (21)	0
V3	0	69,7 (23)	30,3 (10)
V4	0	100,0 (4)	0
V5	0	100,0 (10)	0
V6	0	77,8 (14)	22,2 (4)
V7	0	100,0 (14)	0

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 4: Índices de estructuración FST entre pares de poblaciones de la subespecie *Vicugna vicugna mensalis*. ns: no significativo; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,0001$ .

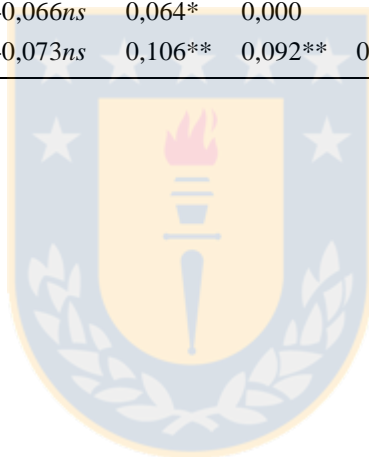
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
<b>M1</b>	0,000									
<b>M2</b>	0,194**	0,000								
<b>M3</b>	0,271**	0,219**	0,000							
<b>M4</b>	0,268**	0,155**	0,169**	0,000						
<b>M5</b>	0,314**	0,187**	0,259**	0,112**	0,000					
<b>M6</b>	0,337**	0,204**	0,255**	0,147**	0,073**	0,000				
<b>M7</b>	0,294**	0,217**	0,287**	0,149**	0,125**	0,174**	0,000			
<b>M8</b>	0,339**	0,258**	0,298**	0,184**	0,083**	0,144**	0,175**	0,000		
<b>M9</b>	0,226**	0,099**	0,205**	0,119**	0,110**	0,095**	0,122**	0,139**	0,000	
<b>M10</b>	0,283**	0,175**	0,245**	0,133**	0,083**	0,068**	0,142**	0,113**	0,036**	0,000

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5: Índices de estructuración FST entre pares de poblaciones de la subespecie *Vicugna vicugna vicugna*. *ns*= no significativo; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,0001$ .

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
V1	0,000						
V2	0,065**	0,000					
V3	0,055**	0,030**	0,000				
V4	-0,028 $ns$	-0,081 $ns$	-0,011 $ns$	0,000			
V5	0,103**	0,121**	0,074**	-0,083 $ns$	0,000		
V6	0,098**	0,082**	0,084**	-0,066 $ns$	0,064*	0,000	
V7	0,098**	0,103**	0,094**	-0,073 $ns$	0,106**	0,092**	0,000

Fuente: Elaboración propia.



## AUTOCORRELACIÓN ESPACIAL

Para la especie *Vicugna vicugna* calculadas con Genalex (figura 5), se evidencia una distancia de autocorrelación espacial de unos 600-650 km, con un máximo coeficiente de autocorrelación  $r$  en los 200 km de  $r= 0,093$  y que disminuye a una autocorrelación de  $r= 0,035$  a los 400 km.

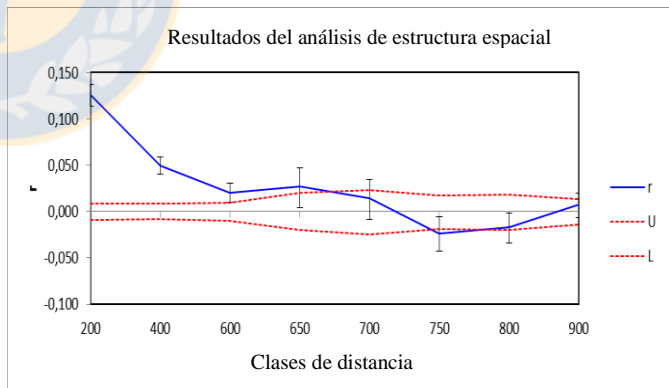
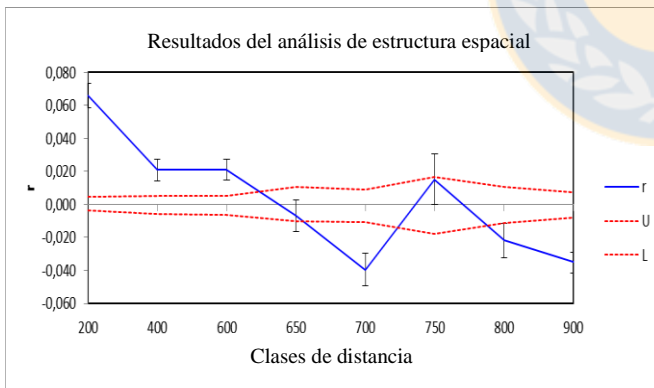
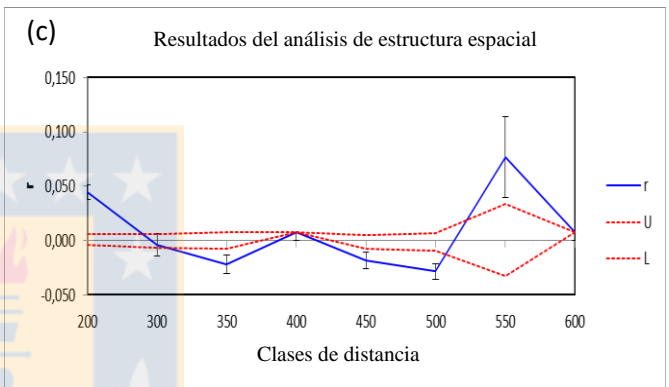
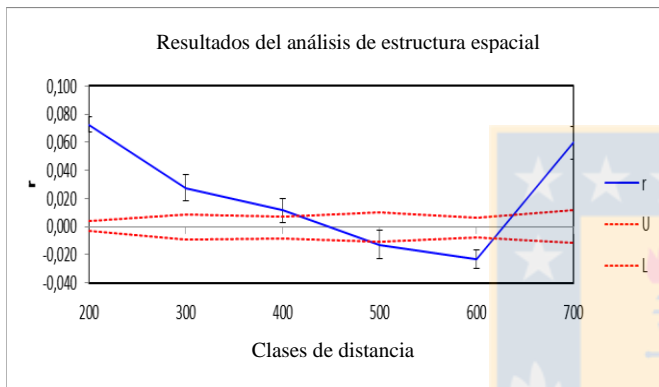
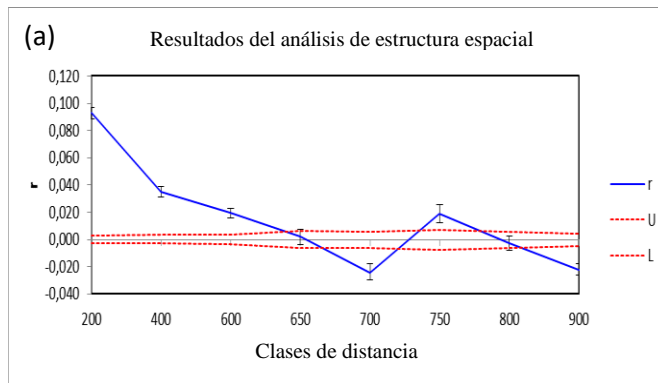
A nivel de subespecie, para *V. v. mensalis* la distancia de autocorrelación espacial llega a los 400 km y *V. v. vicugna* no sobrepasa los 300 km. Mientras que diferenciadamente entre sexos, en los machos la distancia alcanza los 600-650 km y en hembras 650-700 km, con unos valores de autocorrelación de  $r= 0,066$  y  $r= 0,126$  respectivamente en los primeros 200 km.

## DIVERSIDAD GENÉTICA Y FACTORES AMBIENTALES

Para la estimación de la correlación entre la diversidad genética y las características ambientales, considerando en primer lugar la  $H_e$  de cada localidad y las variables ambientales de temperatura anual, precipitaciones anuales y altitud. Únicamente se alcanzó una correlación significativa ( $p=0,002$ ) entre la  $H_e$  con la variable de precipitaciones de  $-0,606$  (figura 6). Sin embargo, al realizar el análisis de diversidad y precipitaciones entre subespecies, solo se aprecia una correlación significativa ( $p=0,003$ ) en la subespecie del norte de  $-0,714$ .

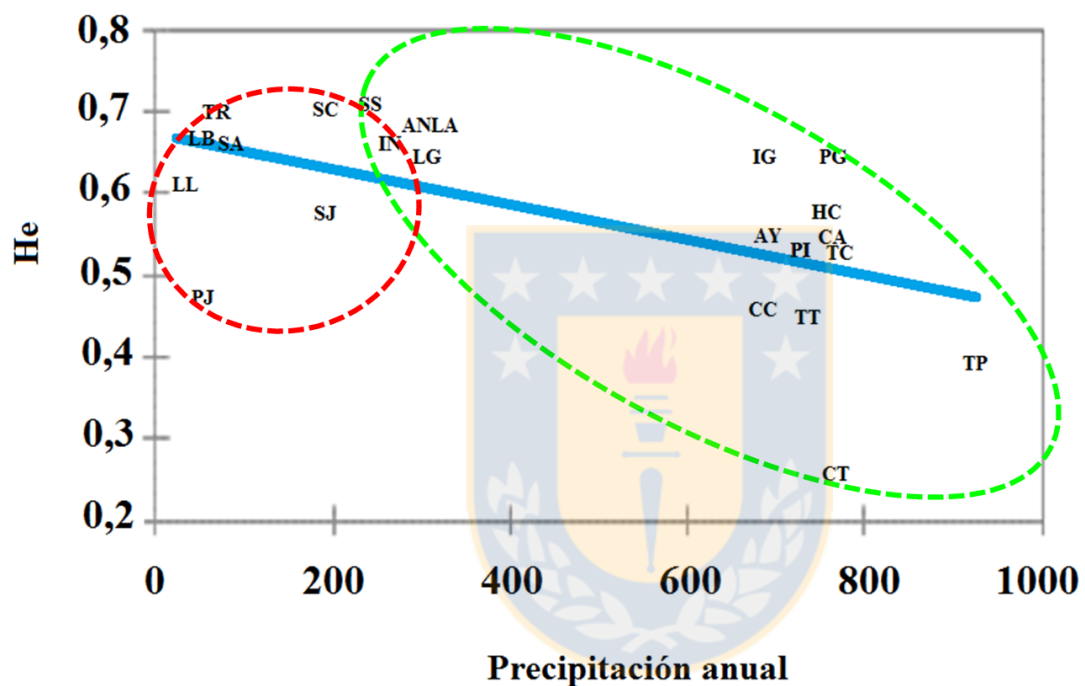
## CUELLOS DE BOTELLA

Por último, los análisis de detección de cuellos de botella recientes realizados con Bottleneck, no detectaron reducciones poblacionales recientes a nivel de especie ni subespecies. Por otro lado, a nivel poblacional en cada subespecie se encontraron posibles reducciones solo en las poblaciones M1 y M7 para el Cluster Norte, mientras que en el Cluster Sur: V4 y V5. El resto de las poblaciones obtuvieron valores con una distribución en forma de L, indicando ausencia de cuellos de botella recientes.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 5. Distancias de autocorrelación espacial para (a) especie *Vicugna vicugna*, (b) subespecie *Vicugna vicugna mensalis*, (c) subespecie *Vicugna vicugna vicugna*, (d) machos de la especie *Vicugna vicugna* y (e) hembras de la especie *Vicugna vicugna*. En el eje y se indican los coeficientes de autocorrelación ( $r$ ), mientras que en el eje x las clases de distancia de autocorrelación en kilómetros.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 6: Matriz de correlación de Pearson entre Precipitación anual vs He= -0,606; p= 0,002; coeficientes de determinación ( $R^2$ )= 0,367 (ver anexo 6). Se indican las localidades y en líneas punteadas verdes las localidades pertenecientes al Cluster Norte, mientras que las líneas punteadas de color rojo, las localidades pertenecientes al Cluster Sur.



## DISCUSIÓN

### DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL

El estudio genético de *Vicugna vicugna* mediante el uso de microsatélites entrega información relevante para el conocimiento de la especie y estructura genética de sus poblaciones, logrando recoger la información genética individual con una elevada tasa de éxito en el genotipado y alto polimorfismo. Estos resultados son concordantes con los marcadores uniparentales utilizados en trabajos previos (Marín *et al.*, 2007; Sarno *et al.*, 2004), pero además, proporcionan mayor resolución en el análisis y evaluación de las poblaciones de la especie.

Los análisis basados 15 loci microsatélites, estudiados aquí, revelan dos grupos a lo largo de la distribución de la especie (figura 3, anexo 2), ambos congruentes con la separación entre las poblaciones septentrionales y australes establecidas con la definición subespecífica previa (Thomas, 1917; Molina, 1782). El Cluster Norte incluye a las poblaciones asentadas al norte de los 18° S y el Cluster Sur a las poblaciones al sur de este paralelo, agrupando las poblaciones pertenecientes a *Vicugna vicugna mensalis* y *Vicugna vicugna vicugna* respectivamente. Este agrupamiento subespecífico confirma los resultados obtenidos con análisis de mtDNA (Marín *et al.*, 2007). Adicionalmente, nuestros resultados permiten reconocer una zona de contacto entre ambas subespecies. Esta zona de contacto o Zona Híbrida se establece entre el paralelo 18° y 22° Sur, dicha zona se compone por las poblaciones M10 (Lagunillas, Corral Ankara y Salar Surire) y V1 (Salar Ascotán) (Tabla 3, figura 4), correspondientes a las poblaciones al sur y norte de la distribución de las dos subespecies respectivamente, siendo influenciada en mayor medida por migraciones desde y hacia el Cluster Norte, especialmente a causa de su cercanía geográfica con la población M9 (Lauca). Esta zona puede influir en los resultados de Sarno *et al.*, (2004), quien analizó genéticamente tres poblaciones bolivianas y una chilena sin confirmar una clara división subespecífica.

Ambos Clusters presentan un alto grado de diversidad genética (Tabla 2), siendo mayor en el Cluster Sur tanto el número medio de alelos por locus (A) como la heterocigosidad esperada (He). Este mismo patrón fue reportado con el análisis de diversidad mitocondrial, con una mayor diversidad en las poblaciones más australes y signos de rápida expansión poblacional en las poblaciones septentrionales con la presencia de un haplotipo principal presente en todas las poblaciones de Perú y norte de Chile

(Marín *et al.*, 2007), probablemente influenciado por los cambios paleoambientales producidos desde la última glaciación del Pleistoceno (14000 – 12000 años atrás). Los datos nucleares, reportados aquí, sin embargo, detectan un mayor número de poblaciones en el Cluster Norte que en el Cluster Sur, 10 y 7 respectivamente (figura 4); con un mayor grado de estructura genética entre las poblaciones del norte (Tabla 4 y 5). Esta incongruencia entre los datos mitocondriales y microsatelitales puede deberse a las diferencias en la tasa de cambio entre ambos tipos de marcadores; siendo la alta estructura poblacional de las poblaciones más septentrionales producto de eventos más recientes, posiblemente antrópicos. Es posible también que las poblaciones australes hayan tenido poblaciones más reducidas pero más estables desde su diferenciación. Una historia completamente diferente y en espejo ha sido observada en el guanaco (*Lama guanicoe*), la cual muestra mayor estructura poblacional en el sur, medida por los mismos loci microsatélite (Marín *et al.*, 2013), y un haplotipo dominante y signos de expansión en las poblaciones australes cuando se analiza la misma región mitocondrial (Marín *et al.*, 2008; Marín *et al.*, 2013). Esta diferencia en la estructura poblacional puede ser el resultado de una mayor distribución geográfica del guanaco (González *et al.*, 2006) y de los distintos patrones de dispersión, ya que la vicuña es un animal menos vágil y con una menor distribución tanto geográfica como ecológica que el guanaco (Franklin, 1983).

Los índices de estructuración en las poblaciones del Cluster Norte serían consecuencia de la reducción poblacional sufrida con mayor intensidad en el norte, lo que acentúa las diferencias entre los parches de poblaciones resultantes luego del evento. La influencia de la reducción sufrida hasta la década de los 60s a causa de la caza (Laker *et al.*, 2006), que provocó una pérdida de alelos derivando en una mayor distancia entre ellas, no es posible de separarla de un efecto producido por la domesticación de las poblaciones del norte que habrían dado origen a la alpaca (*Vicugna pacos*) y que habría ocurridos 6.000 a 7.000 años antes del presente en la puna húmeda (Wheeler, 1995). La historia demográfica diferencial de las subespecies de vicuña, por tanto, se hace evidente aun después de su reducción y posterior recuperación.

Los altos índices de diversidad poblacional y la ausencia en la detección de cuellos de botella reciente en nuestros análisis con el software bottleneck en ambas subespecies, muestran una adecuada recuperación genética de la especie. Los rigurosos planes de conservación implementados hace cinco décadas (Wheeler & Hoces, 1997; Wheeler, 2006) impulsados primeramente por Perú en los 60s y luego por Argentina, Bolivia y Chile (Cajal *et al.*, 1983), logrando por ejemplo, en el Parque Nacional

Lauca en Chile, un incremento de cerca de 2000 a más de 20000 ejemplares en un tiempo de 17 años desde el censo iniciado en 1975 (Bonacic *et al.*, 2002); un incremento del 21% fue registrado igualmente en un corto periodo de tiempo en la primera reserva establecida en Pampa Galeras en Perú, como respuesta principalmente al mejor control de la caza (Sánchez, 1984). En términos de recuperación de la población, los programas de conservación fueron a gran escala acertados (Wheeler & Laker, 2009) permitiendo que la vicuña presente iguales o mayores índices de diversidad genética para los datos mitocondriales y/o microsatélites que diversas especies de ungulados (eg. *Capra ibex ibex*, Maudet *et al.*, 2002; *Ovis canadensis*, Gutierrez-Espeleta *et al.*, 2000; *Ovibos moschatus*, Holm *et al.*, 1999, *Alces alces*, Broders *et al.*, 1999) (Sarno *et al.*, 2004). Sin embargo, aunque en nuestros análisis solo cuatro poblaciones presentan señales de cuellos de botella reciente (M1, M7, V4 y V5), nuestros datos evidencian la capacidad de la especie para conseguir una rápida recuperación de la diversidad en la mayoría de sus poblaciones. Similares casos son los reportados en una población de gorriones cantores (Keller *et al.*, 2001), cuya diversidad fue estudiada antes y después de un cuello de botella que eliminó cerca del 90% de la población. Luego de 1 a 3 años lograron recuperar la diversidad y pasado ese tiempo no fue posible detectar el cuello de botella. Este mismo caso se ha reportado en otros trabajos (e.g. Bush *et al.*, 2007; Marchal *et al.*, 2009; Burton *et al.*, 2002; Berthier *et al.*, 2006; Redeker *et al.*, 2006), siendo el principal factor la presencia de migraciones, aun cuando estas corresponden a unos pocos individuos (Keller *et al.*, 2001). Mientras que en camélidos se reportó un caso con guanacos en las Islas Falkland, los que tuvieron una recuperación en solo unas décadas luego de una drástica reducción a mediados del siglo XX (González *et al.*, 2014). La rápida recuperación de diversidad en vicuñas y guanacos son ejemplos de la capacidad de mamíferos de gran tamaño con diversidad reducida de poder recuperarse en cortos periodos de tiempo si es que existen planes correctamente implementados.

## AUTOCORRELACIÓN ESPACIAL

Los índices significativos de estructuración poblacional encontrados se relacionan con la una escasa movilidad interpoblacional. Sin embargo, aunque hemos detectado una gran proporción de tasas de migración similares o menores a 0,01 migrantes por generación (anexo 2 y 3), esta tasa puede ser suficiente para influir en la recuperación posterior a una reducción demográfica (Pope *et al.*, 2000). Por

otra parte, las distancias de autocorrelación espacial calculadas en este trabajo para *V. v. mensalis* y *V. v. vicugna* fueron 400 km y 300 km respectivamente (figura 5), indicando que existe una dispersión relativamente alta entre poblaciones, siendo esta mayor entre las poblaciones más septentrionales. Estos resultados no son concordantes con los altos índices de estructuración poblacional calculados a través de los marcadores biparentales, aunque si se relacionarían con la presencia de un principal haplotipo mitocondrial compartido que se observa entre estas poblaciones. La presencia de coordenadas individuales en lugar de localidades o principalmente individuos presentes en localidades intermedias a las muestreadas en este estudio, permitiría realizar un análisis de autocorrelación espacial a una escala más fina, que redundaría en un cálculo más exacto en la determinación de los rangos de hogar y desplazamientos de esta especie.

Las distancias de autocorrelación calculada entre sexos, muestran por su parte, una mayor distancia entre las hembras que entre los machos, aun cuando la dispersión basada en machos es predicha ocurrir en especies poligínicas, compuestas por un macho y un harén de 3-5 hembras y sus crías, especialmente cuando los sexos difieren en su habilidad para asegurar recursos necesarios para la reproducción (Bohonak, 1999). Este es el resultado de una mayor fidelidad al sitio que presentan los machos a causa de su mayor territorialidad, los que alcanzan incluso a defender territorios por hasta unos 6 años (Bosch & Svendsen, 1987). Las hembras por su parte presentarían una mayor dispersión ya que incluso si el residente masculino está herido o por alguna razón no puede mantener un territorio, estas junto a sus crías dejan el lugar (Franklin, 1974; Koford, 1957). Las hembras, por estar en un ambiente poco propicio para la crianza, y con la exigencia de un mayor periodo de pastoreo que los machos (Bosch & Svendsen, 1987), son proclives al movimiento a mejores sitios para la reproducción y crianza. Los grupos de machos solteros, que se producen por la expulsión de las crías de ese sexo expulsadas del harén por el macho dominante, al contrario de lo esperado, no son influyentes en la determinación de una mayor distancia de autocorrelación. En comparación con las hembras y aunque los grupos de machos solteros tienden a ser más móviles (Bosch & Svendsen, 1987), tiene un éxito reproductivo bajo puesto que pocos de ellos llegarán a formar su propio harén y dejar así sus genes a la siguiente generación. Se ha reportado incluso grupos de machos solteros que jamás dejan descendencia (Vilá & Roig, 1992).

## DIVERSIDAD Y AMBIENTE

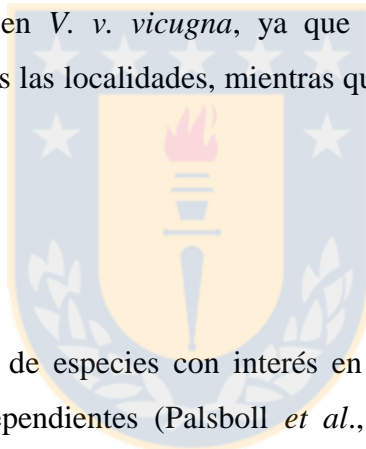
Las vicuñas son camélidos que están adaptados a la vida en desiertos en altura (Baied & Wheeler, 1993; Franklin, 1982; Koford, 1957), los mayores índices de diversidad intrapoblacional observados en el Cluster Sur probablemente están relacionados a un ambiente más favorable, a un posible refugio para la especie en la denominada “diagonal árida” (Marín *et al.*, 2007). Una región que cruza los Andes en dirección Noreste a Sureste en la que se producen precipitaciones al norte de los 23° S y al sur de los 27° S (Ammann *et al.*, 2001; Kull *et al.*, 2002). Esto ha permitido que la zona se mantenga prácticamente sin lluvias durante el año y que durante el Último Máximo Glacial (UMG) habría reunido las condiciones ideales para refugiar a los camélidos. Los índices de diversidad mitocondrial de Marín *et al.*, (2007) y los bajos índices de estructuración en comparación con el Cluster Norte pueden responder a un proceso de adaptación fisiológico a los ambientes más áridos (Baied and Wheeler, 1993; Bas & Bonacic, 2003; Franklin, 1982; Koford, 1957), lo que ya ha sido reportado con el estudio de genomas de camello, dromedario y alpaca (Wu *et al.*, 2014), este último, descendiente doméstico de la vicuña, podría haber recibido estas adaptaciones desde su ancestro silvestre.

En este contexto, la correlación negativa entre los índices de diversidad genética y precipitaciones reportado aquí (figura 6), apoyan esta adaptación histórica beneficiada por el refugio y las actuales condiciones ambientales con ausencia de lluvias, condiciones que fueron formadas desde el Pleistoceno (Wheeler & Laker, 2009). La vicuña se habría adaptado a las condiciones hostiles de la Puna donde la humedad es suficiente para mantener el ecosistema especializado y sus adaptaciones le han permitido apartarse de otras especies de mamíferos (Bas and Bonacic, 2003; Wheeler & Laker, 2009) ya que la ausencia casi total de precipitaciones representa un factor limitante para la vida vegetal y animal (Wheeler & Laker, 2009) impidiendo que otra especie natural compita por sus recursos. Estas condiciones probablemente también han impulsado un aumento en la movilidad de individuos entre las poblaciones vecinas hacia la búsqueda de recursos, ya que es sabido que la especie no realiza grandes migraciones, sin embargo, la subespecie *V. v. vicugna* presenta tasas de migración levemente mayores que *V. v. mensalis*.

Los factores meteorológicos cumplen un rol importante en la dinámica de los animales en ambientes áridos y semiáridos (Jaksic, 2001; Jaksic and Lima, 2003; Cepeda-Pizarro *et al.*, 2006, 2007) y la vicuña como uno de los pocos herbívoros grandes nativo de los ambientes áridos de Sudamérica

(Franklin, 1983) podría verse afectada positivamente con la disminución de las precipitaciones en los ecosistemas semiáridos producto del cambio climático, ya que la vicuña ha demostrado tener una dieta variada y puede utilizar un amplio rango de especies de plantas distribuidas ampliamente en su entorno (Borgnia *et al.*, 2010), debido a esto incluso podría ser clasificada en la categoría de “pastoreadores facultativos” (Fernández *et al.*, 1991) o “pastoreadores variables” (Gagnon & Chew, 2000). Mayores análisis en este contexto podrían confirmar o descartar, en primera instancia una relación de causa y efecto en los resultados expuestos e indicar si los cambios en los patrones de precipitación podrían incidir en los índices de diversidad genética de la especie en mayor medida que la sola alteración de las temperaturas, observación que podría, por qué no, influir en guanacos y otras especies proclives a contextos en donde las precipitaciones puedan ser alteradas ante los nuevos escenarios climáticos.

Esta correlación entre precipitaciones y diversidad genética también se observó por separado en la subespecie *V. v. mensalis*, no así en *V. v. vicugna*, ya que en esta los índices de diversidad y precipitaciones son similares en todas las localidades, mientras que en *V. v. mensalis* son más variables entre sus localidades.



## CONSERVACION

Un objetivo central para el manejo de especies con interés en conservación es la identificación de poblaciones demográficamente independientes (Palsboll *et al.*, 2007) y a pesar de que la especie evidencia un estado en general recuperado, es necesario definir lo que Moritz (1994) denomina Unidades de Significancia Evolutiva “ESU”, o en su defecto las unidades de manejo “MUs” para un mejor cuidado y protección del potencial evolutivo de las poblaciones. Las Unidades de Significancia Evolutivas constituyen la unidad mínima básica de conservación de la biodiversidad, constituidas por unidades biológicas formadas por una o más poblaciones que se encuentran geográfica y reproductivamente aisladas, que a nivel mitocondrial establecen un grupo monofilético, y muestran alelos nucleares diferenciados; sin descartar la presencia de rasgos fenotípicos propios. Las Unidades de Manejo “UM”, por su parte, son poblaciones locales con bajos rangos de dispersión, pero con algún grado de diferenciación genética. Para la vicuña Marín *et al* del 2007 expone una topología de la Región Control del mtDNA que en general coinciden en mostrar una estructura de dos linajes bien definidos que separa las poblaciones de vicuñas del norte de las del sur de su distribución,

reconociendo a las vicuñas *V. v. mensalis* y *V. v. vicugna* como recíprocamente monofiléticas. Los resultados con marcadores microsatélite, analizados aquí, ratifican la presencia de 2 grupos diferenciados (Cluster Norte y Cluster Sur) concordante con las subespecies *Vicugna vicugna mensalis* y *Vicugna vicugna vicugna*, con una zona de contacto entre ellas. Esta diferenciación respaldando la definición de “ESU” establecida sobre la base de su distribución geográfica e historia mitocondrial. Así mismo, la estructura poblacional al interior de cada Unidad de Significancia Evolutiva, permite proponer 10 y 7 “MUs” para los ESUs del norte y sur respectivamente. Entre ellos, las poblaciones M9 (LA), M10 (LG) y M5 (PG), del Cluster Norte y V2 (SC), del Cluster Sur muestran altos niveles de diversidad, y constituyen poblaciones donde focalizar esfuerzos y planes de manejo ante un escenario crítico para la especie, ya que el mantenimiento de la diversidad genética dentro de las poblaciones es esencial para la conservación de especies porque permitirían la adaptación a futuros cambios ambientales (Freeman & Herron, 2007) por la presencia de alelos que les permitan adaptarse a los nuevos escenarios. En un sentido opuesto, las poblaciones M1 (CT), del Cluster Norte y V4 (PJ), del Cluster Sur muestran bajos índices de diversidad genética, sin embargo, es posible que esto sea debido al reducido muestreo realizado hasta ahora.

Finalmente, podemos afirmar que nuestros resultados entregan información importante a tomar en consideración para la toma de decisiones en pro de la conservación de la vicuña. Estudios sugieren que las vegas son un hábitat de un valor fundamental para la vicuña y la conservación de este hábitat es de primordial importancia para su preservación (Renaudeau d’Arc *et al.*, 2000) evitando por ejemplo, la sobreexplotación por parte de animales domésticos (burros, alpacas y llamas), ya que su presencia provoca un desplazamiento de la vicuña impidiendo un aumento en su densidad poblacional (Borgnia *et al.*, 2008; Arzamendia & Vilá, 2003; Villalba, 2003). También, ante la ausencia de evidencia que indique que antes de las reducciones poblacionales, la estructura genética pasada pudo haber sido más estructurada que la actual, proponemos mantener una conexión entre poblaciones o familias de vicuñas que no superen los 400 o 300 km de distancia y así conservar el flujo y variabilidad poblacional entre localidades que sea más probable que comparta los mismos clusters genéticos y así permitan mantener un estado genético saludable para las poblaciones de la especie.

## CONCLUSIONES

1. Los análisis genéticos nucleares son congruentes con los reportados con mtDNA, evidenciando una división en dos subespecies de vicuña, *Vicugna vicugna mensalis* y *Vicugna vicugna vicugna* distribuidas al norte y sur respectivamente, identificando además, una zona híbrida o de contacto entre las dos subespecies, lo que no había sido evidenciado previamente.
2. La *Vicugna vicugna mensalis* presenta menores índices de diversidad genética intrapoblacional y mayor estructuración entre la mayoría de sus poblaciones que *Vicugna vicugna vicugna*. Dichos índices serían probablemente producto de las reducciones demográficas recientes producidas en mayor intensidad que sobre las poblaciones de *Vicugna vicugna vicugna*.
3. Las distancias de autocorrelación espacial diferencial entre sexos evidencian una mayor distancia de autocorrelación espacial en las hembras de *Vicugna vicugna*, aunque leve. Por lo que las migraciones de machos solteros, aunque es evidentemente mayor que en las hembras, no es influyente en el traspaso de sus genes a las siguientes generaciones, preponderando mayormente el aporte de las hembras.
4. El ambiente seco y homogéneo de *Vicugna vicugna vicugna* pudo haber favorecido el mantenimiento de la diversidad genética de la subespecie, más que en *Vicugna vicugna mensalis*. Se observan también, bajos niveles de estructuración y ausencia de valores significativos de los mismos, debido a las condiciones del UMG y posiblemente a adaptaciones de la especie a ambientes áridos.
5. Las poblaciones de vicuña analizadas muestran un estado genético saludable, que podría relacionarse a su capacidad de recuperación poblacional gracias a los exitosos esfuerzos de conservación. Se exponen sin embargo, evidencias que permiten tener un mejor conocimiento de la estructura genética de la especie, los que pueden ser considerados como un aporte a futuras tomas de decisiones en pro del bienestar de la especie.



## REFERENCIAS

- Aasen, E. & Medrano, JF. (1990). Amplification of the ZFY and ZFX genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats. *Biotechnology*, 8: 279-1281.
- Addinsoft. (2016). XLSTAT, MS Excel add-in. (<https://www.xlstat.com/en/>). NY, USA.
- Agapito, J., Rodríguez, J., Herrera-Velut, P., Timoteo, O., Rojas, P., Boettcher, PJ., García, F. & Espinoza, JR. (2008). Parentage testing in alpacas (*Vicugna pacos*) using semi-automated fluorescent multiplex PCRs with 10 microsatellite markers. *Animal Genetics*, 39: 201-203.
- Amagai, Y., Martinek, P., Kuboyama, T., & Watanabe, N. (2016). Microsatellite mapping of the *Scr1* locus conferring screwed spike rachis to modify the spatial orientation of spikelets in *Triticum aestivum* L. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64: 1569-1579.
- Ammann, C., Jenny, B., Kammer, K. & Messerli, B. (2001). Late Quaternary Glacier response to humidity changes in the arid Andes of Chile (18–29° S). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 172: 313-326.
- Arzamendia, Y. & Vilá, B. (2003). Estudios de comportamiento social de vicuñas en la RB Laguna de Pozuelos, Jujuy, Argentina, como línea de base para el manejo sostenible de la especie. En: Cif FC (ed), Memorias del III Congreso Mundial sobre Camélidos, 1er. Taller internacional de DECAMA, Vol I., Potosí, Bolivia, 187-192.
- Baied, C. & Wheeler, JC. (1993). Evolution of high Andean Puna ecosystems: environment, climate, and culture change over the last 12,000 years in the central Andes. *Mountain Research and Development*, 13: 145-156.
- Bas, F. & Bonacic, C. (2003). Adaptive strategies of South American camelids. En: Proceedings of the VI International Symposium on the Nutrition of Herbivores Merida Yucatan, Mexico: 23-33.
- Berthier, K., Charbonnel, N., Galan, M., Chaval, Y. & Cosson, JF. (2006). Migration and recovery of the genetic diversity during the increasing density phase in cyclic vole populations. *Molecular Ecology*, 15: 2665-2676.

- Bohonak, AJ. (1999). Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74(1): 21-45.
- Bonacic, C., Macdonald, DW., Galaz, J. & Sibly, RM. (2002). Density dependence in the camelid *Vicugna vicugna*: the recovery of a protected population in Chile. *Oryx*, 2: 118-125.
- Bonavia, D. (1996). Los camélidos sudamericanos, Una introducción a su estudio. IFEA-UPCH – Conservation International, Lima.
- Borgnia, M., Vilá, BL. & Cassini, MH. (2008). Interaction between wild camelids and livestock in an Andean semi-desert. *Journal of Arid Environments*, 72: 2150-2158.
- Borgnia, M., Vilá, B. & Cassini, M. (2010). Forging ecology of Vicuña, *Vicugna vicugna*, in dry Puna of Argentina. *Small Ruminant Research*, 88: 44-53.
- Bosch, PC. & Svendsen, GE. (1987). Behaviour of male and female vicuña and its relation to reproductive effort. *Journal of Mammalogy*, 68: 425-429.
- Broders, HG., Mahoney, SP., Montevecchi, WA. & Davidson, WS. (1999). Population genetic structure and the effect of founder events on the genetic variability of moose, *Alces alces*, in Canada. *Molecular Ecology*, 8: 1309-1315.
- Burton, C., Krebs, CJ. & Taylor, EB. (2002). Population genetic structure of the cyclic snowshoe hare (*Lepus americanus*) in southwestern Yukon, Canada. *Molecular Ecology*, 11: 1689-1701.
- Busch, JD., Waser, PM. & DeWoody, JA. (2007). Recent demographic bottlenecks are not accompanied by a genetic signature in banner-tailed kangaroo rats (*Dipodomys spectabilis*). *Molecular Ecology*, 16: 2450-2462.
- Cajal, JL., Pujalte, J. & Reca, A. (1983). Resultados de los censos de camélidos silvestres en las reservas de San Guillermo (San Juan), Laguna Brava (La Rioja) y Laguna Blanca (Catamarca). Report to the Xith Argentine Meeting of Ecology, Cordoba, Argentina.
- Cajal, JL., Tonni, EP. & Tartarini, V. (2010). The extinction of some south american camelids: the case of *Lama (Vicugna) Gracilis*. *Mastozoología Neotropical*, 17(1): 129-134.

- Cassini, M., Borgia, M., Arzamendia, Y., Benítez, V. & Vilá B. (2009). Sociality, Foraging and Habitat Use by Vicuña. En Gordon IJ. (ed). The Vicuña. The theory and practice of community-based wildlife management. *Springer Science + Business Media*.
- Cavalli-Sforza, LL. (1998). The DNA revolution in population genetics. *Trends Genetics*, 14: 60-65.
- Cepeda-Pizarro, I., Vega, S., Elgueta, M. & Pizarro-Araya. (2006). Algunos antecedentes meteorológicos que explican las irrupciones de *Elasmoderus wagenknechti* (Orthoptera: Tristiridae) en la Región del semiárido de Chile. *IDESIA (Chile)*, 24: 49-63.
- Cepeda-Pizarro, I, Vega, S., Vásquez, H., Elgueta, M. & Pizarro-Araya, J. (2007). Demography of two populations outbreaks of *Elasmoderus wagenknechti* (Orthoptera: Tristiridae) in the semi-arid region of Chile. *Neotropical Entomology*, 36: 495-502.
- Chesser, RK. (1991). Influence of gene flow and breeding tactics on gene diversity within populations. *Genetics*, 127: 372-388.
- Collard, BC., Jahufer, MZ., Brouwer, JB. & Pang, EC. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement. *Euphytica*, 142: 169-196.
- Dallas, JF., Carss, DN., Marshall, F., Koepfli, KP., Kruuk, H., Bacon, PJ. & Piartney, SB. (2000). Sex identification of the Eurasian otter, *Lutra lutra* by PCR typing of spraints. *Conservation Genetics*, 1: 181-183.
- Drew, ML., Meyers-Wallen, VN., Acland, GM., Guyer, CL. & Steinheimer, DN. (1999). Presumptive Sry-negative XX sex reversal in a llama with multiple congenital anomalies. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215: 1134-1139.
- Earl, DA. & vonHoldt, BM. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4: 359-361.
- Evanno, G., Regnaut, S. & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE, a simulation study. *Molecular Ecology*, 34: 2611-2620.

- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1: 47-50.
- Excoffier, L., Smouse, PE. & Quattro, JM. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes, application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- Fernández, J., Markgraf, V., Panarello, MA., Angiolini, F., Valencio, S. & Arriaga, M. (1991). Late Pleistocene/Early Holocene environments and climates, fauna, and human occupation in the argentine altiplano. *Geoarchaeology*, 6: 251-272.
- Field, D. & Wills. C. (1998). Long polymorphic microsatellites in simple organisms. *Biological Sciences*, 263: 209-215.
- Flanders, J., Jones, G., Benda, P., Dietz, C., Zhang, S., Li, G., Sharifi, M. & Rossiter, J. (2009). Phylogeography of the greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum*: contrasting results from mitochondrial and microsatellite data. *Molecular Ecology*, 18: 306-318.
- Franklin, WL. (1974). The social behaviour of the vicuña. En: Geist V, Walther F (eds), The behavior of ungulates and its relation to management. IUCN, Morges, Switzerland: 477-487.
- Franklin, WL. (1978). Socioecology of the vicuna. Unpubl. Ph.D. dissert., Utah State Univ., Logan, Utah, 172.
- Franklin, WL. (1982). Biology, ecology and relationships to man of the South American camelids. En Mammalian Biology in South America, Vol. 6. Special Publication Series (eds M.A. Marer & H.H. Genoways), 6: 457-489.
- Franklin, WL. (1983). Contrasting socioecologies of South America's wild camelids: the vicuña and the guanaco. En: J.F. Eisenberg and D. Kleiman (Ed). Advances in the Study of Animal Behavior. Spec. Publ. No. 7, *American Society of Mammalogists*. Shippensburg, 573-629.
- Freeman, S. & Herron, JC. (2007). Evolutionary analysis. 4th Edition. Pearson Education, Inc.
- Gagnon, M. & Chew, AE. (2000). Dietary preferences in extant African bovidae. *Journal of Mammalogy*, 81: 490-511.

- Godinho, R., Crespo, EG. & Ferrand, N. (2008). The limits of mtDNA phylogeography: Complex patterns of population history in a highly structured Iberian lizard are only revealed by the use of nuclear markers. *Molecular Ecology*, 17: 4670-4683.
- González, B. A., Orozco-terWengel, P., von Borries, R., Johnson, W. E., Franklin, W. L., & Marín, J. C. (2014). Maintenance of Genetic Diversity in an Introduced Island Population of Guanacos after Seven Decades and Two Severe Demographic Bottlenecks: Implications for Camelid Conservation. *PLoS ONE*. 9(3): e91714. doi:10.1371/journal.pone.0091714.
- Goudet, J. (2005). FSTAT Version 2.9.4.: A Program to Estimate and Test Population Genetics Parameters. Available at: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- Guillot, G., Mortier, F. & Estoup, A. (2005). Geneland: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes*, 5: 712-715.
- Gutierrez-Espelata, GA., Kalinowski, SA., Boyce, WM. & Hedrick, PW. (2000). Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: Implications for conservation. *Conservation Genetics*, 1: 3-15.
- Hancock, JM. (1999). Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. En *Microsatellites: Evolution and Applications* (Goldstein, D. B.& Schlötterer, eds) *Oxford University Press, Oxford*, 1-9.
- Harrison, JA. (1979). Revision of the Camelinae (Artiodactyla Tylopoda) and description of the new genus alforjas. *Paleontol Contributions Univ Kansas*, 95: 1-20.
- Hemming, F. (1958). Official List of Works Approved as Available for Zoological Nomenclature. *International Trust for Zoological Nomenclature. London (U.K.)*, 19.
- Hewitt, GM. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359: 183-195.
- Heywood, VH. & Iriondo, JM. (2003). Plant conservation: Old problems, new perspectives. *Biological Conservation*, 113: 321-335.
- Hoffman, R., Otte, K., Ponce, CF. & Rios, MA. (1983). El manejo de la vicuña silvestre (Wild vicuña management). *Sociedad Alemana de Cooperación Técnica, Eschborn, GTZ, Berlin*. Vol. 1: 375.

- Hoffstetter, R. (1986). High Andean mammalian faunas during the Plio-Pleistocene. En: Vuilleumier F, Monasterio M (eds). High Altitude Tropical Biogeography. *Oxford University Press*: Oxford, 218-245.
- Holderegger, R. & Wagner, HH. (2008). Landscape genetics. *Bioscience*, 58: 199-207.
- Holm, LE., Forchhammer, MC. & Boomsma, JJ. (1999). Low genetic variation in muskoxen (*Ovibos moschatus*) from western Greenland using microsatellites. *Molecular Ecology*, 8: 675-679.
- Hulva, P., Fornůsková, A., Chudárková, A., Evin, A., Allegrini, B., Benda, P. & Bryja, J. (2010). Mechanisms of radiation in a bat group from the genus *Pipistrellus* inferred by phylogeography, demography and population genetics. *Molecular Ecology*, 19(24): 5417-5431.
- Jaksic, FM. (2001). Ecological effects of El Niño in terrestrial ecosystems of western South America. *Ecography*, 24: 241-250.
- Jaksic, FM. & Lima, M. (2003). Myths and facts on ratadas: Bamboo blooms, rainfall peaks and rodent outbreaks in South America. *Austral Ecology*, 28: 237-251.
- Jarne, P. & Lagoda, P. (1996). Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution*, 11: 424-429.
- Jezkova, T., Riddle, BR., Card, DC., Schield, DR., Eckstut, ME. & Castoe, TA. (2015). Genetic consequences of postglacial range expansion in two codistributed rodents (genus *Dipodomys*) depend on ecology and genetic locus. *Molecular Ecology*, 24: 83-97.
- Jones, N., Ougham, H. & Thomas, H. (1997). Markers and mapping: We are all geneticists now. *New Phytol*, 137: 165-177.
- Kadwell, M., Fernández, M., Stanley, HF., Baldi, R., Wheeler, JC., Rosadio, R. & Bruford, MW. (2001). Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and alpaca. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1485): 2575-2584.
- Keller, LF., Jeffery, KJ., Arcese, P., Beaumont, MA., Hochachka, WM., Smith, JN. & Bruford, MW. (2001). Immigration and the ephemerality of a natural population bottleneck: evidence from molecular markers. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1474): 1387-1394.

- Koford, C. (1957). The vicuña and the puna. *Ecological Monographs*, 27: 152-219.
- Kozhamkulova, BS. (1986): The late Cenozoic two-humped (bactrian) camels of Asia. *Quartärpaläont*, 6: 93-97.
- Kühn, R., Schwab, G., Schröder, W. & Rottmann, O. (2002). Molecular sex diagnosis in castoridae. *Zoo Biololy*, 21: 305-308.
- Kull, C., Grosjean, M. & Veit, H. (2002). Modeling modern and late Pleistocene glacio-climatological conditions in the North Chilean Andes (29–301S). *Climatic Change*, 52: 359-381.
- Laker, J., Baldo, J., Arzamendia, Y. & Yacobaccio, H. (2006). La vicuña en los andes, En: Vila´-Proyecto Macs, B. (Ed.), Investigación, Conservación y Manejo de Vicuñas.
- Lang, KD., Wang, Y. & Plante, Y. (1996). Fifteen polymorphic dinucleotide microsatellites in llamas and alpacas. *Animal Genetics*, 27: 293.
- Luikart, G., Biju-Duval, M.P., Ertugrul, O., Zagdsuren, Y., Maudet, C. & Taberlet, P. (1999). Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics*, 30: 431-438.
- Manel, S. & Holderegger, R. (2013). Ten years of landscape genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, 28: 614-621.
- Manel, S., Schwartz, MK., Luikart, G. & Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 189-197.
- Marshall, JC., Kingsbury, BA. & Minchella, DJ. (2009). Microsatellite variation, population structure, and bottlenecks in the threatened copperbelly water snake. *Conservation Genetics*, 10(2): 465-476.
- Marín, JC., Casey, CS., Kadwell, M., Yaya, K., Hoces, D., Olazabal, J., Rosadio, R., Rodriguez, J., Sportono, A., Bruford, MW. & Wheeler, JC. (2007). Mitochondrial Phylogeography and Demographic History of the Vicuña: Implications for Conservation. *Heredity*, 99: 70-80.
- Marín, JC., Corti, P., Saucedo, C. & González, BA. (2009). Application of DNA forensic techniques for identifying poached guanacos (*Lama guanicoe*) in Chilean Patagonia. *Journal of Forensic Sciences*, 54: 1073-1076.

- Marín, JC., Gonzalez, B., Poulin, E., Casey, C. & Johnson, W. (2013). The influence of arid Andean high plateau on the phylogeography and population genetics of guanaco (*Lama guanicoe*) in South America. *Molecular Ecology*, 22: 463-482.
- Marín, JC., Spotorno, AE., Gonzalez, B., Bonacic, C., Wheeler, JC., Casey, CS., Bruford, MW., Palma, RE. & Poulin, E. (2008). Mitochondrial DNA variation and systematics of the guanaco (*Lama guanicoe*, Artiodactyla: Camelidae). *Journal of Mammalogy*, 89(2): 269-281.
- Marín, JC. & Benado, M. (2005). Genética de las poblaciones de vicuñas: implicancias para su conservación y manejo. En Galaz, JL & González, G. Técnicas para el manejo productivo de la vicuña (*Vicugna vicugna* Molina, 1782) en Chile. Corporación Nacional Forestal – Fundación para la innovación Agraria (CONAF) – FIA). Santiago, Chile. 73-84.
- Maudet, C., Miller, C., Bassano, B., Breitenmoser-Würsten, C., Gauthier, D., Obexer-Ruff, G., Michallet, J., Taberlet, P. & Luikart, G. (2002). Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: Applications in Alpine Ibex [*Capra ibex* (ibex)]. *Molecular Ecology*, 11: 421-436.
- Miao, YC., Lang, XD., Zhang, ZZ., & Su, JR. (2014). Phylogeography and genetic effects of habitat fragmentation on endangered *Taxus yunnanensis* in southwest China as revealed by microsatellite data. *Plant Biology*, 16(2): 365-374.
- Miller, G. & Gill, A. (1990). Zooarchaeology at Pirincay, a formative period site in highland Ecuador. *Journal of Field Archaeology*, 17: 49-68.
- Molina, GI. (1782). Saggio Sulla Storia Naturale del Chile. *Bologna, Tommaso d'Aquino*, 367.
- Montenegro, V., Maturrano, L., Wheeler, JC. & Rosadio, R. (2012). Determinación del sexo mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en camélidos sudamericanos. Use of polimerase chain reaction for sexing south american camelids. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(3): 377-387
- Moritz, CC. (1994). Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 9: 373-375.



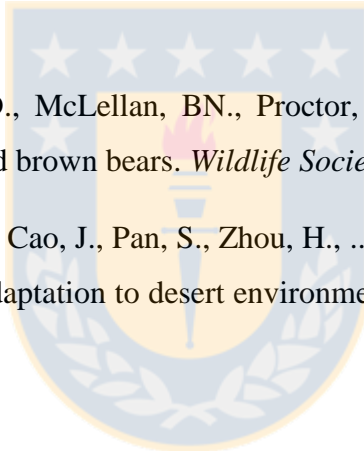
- Napolitano, C., Johnson, WE., Sanderson, J., O'Brien, SJ., Hoelzel, AR., Freer, R., Dunstone, N., Ritland, K., Ritland, CE. & Poulin, E. (2014). Phylogeography and population history of *Leopardus guigna*, the smallest American felid. *Conservation Genetics*, 15(3): 631-653.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, 512 pp.
- Nielsen, EE., Bach, LA., & Kotlick, P. (2006). HYBRIDLAB (version 1.0): A program for generating simulated hybrids from population samples. *Molecular Ecology Notes*, 6: 971-973.
- Palsboll, PJ., Berube, M. & Allendorf, FW. (2007). Identification of management units using population genetic data. *Trends in Ecology and Evolution*, 22: 11-16.
- Park, SDE. 2001. The Excel Microsatellite Toolkit (version 3.1). Animal Genomics Laboratory, UCD, Ireland. <http://animal.genomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit/>.
- Penedo MCT., Caetano AR. & Cordova KI. (1998). Microsatellite markers for South American camelids. *Animal Genetics*, 29: 411-412.
- Penedo, MCT., Caetano, AR.. & Cordova, K. (1999). Eight microsatellite markers for South American camelids. *Animal Genetics*, 30: 166-167.
- Paterson, AH. (1996). Making genetic maps. *Genome Mapping in Plants*, pp. 23-39. R. G. Landes Company, San Diego, California; *Academic Press, Austin, Texas*
- Peakall, R. & Smouse, PE. (2012). GENALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-9.
- Pilgrim, KL., Mckeelvey, KS., Riddle, AE. & Schwartz, MK. (2005). Felid sex identification based on noninvasive genetic samples. *Molecular Ecology Notes*, 5: 60-61.
- Piry, S., Luikart, G. & Cornuet, JM. (1999). BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90: 502-503.
- Pomp, D., Good, BA., Geiser, RD., Corbin, CJ. & Conley, AJ. (1995). Sex identification in mammals with polymerase chain reaction and its use to examine sex effects on diameter of day 10 or 11 pig embryos. *Journal of Animal Science*, 73: 1408-1415.

- Pope, LC., Estoup, A. & Moritz, C. (2000). Phylogeography and population structure of an ecotonal marsupial, *Bettongia tropica*, determined using mtDNA and microsatellites. *Molecular Ecology*, 9: 2041-2053.
- Pritchard, JK., Stephens, M. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Prithviraj, F. & Melnick, J. (2001). Molecular sexing eutherian mammals. *Molecular Ecology Notes* 1: 350-353.
- Rabinovics, J., Capurro, A. & Pessina, L. (1991). Vicuña use and the bioeconomics of an Andean peasant community in Catamarca, Argentina. In *Neotropical Wildlife Use and Conservation* (eds J. Robinson & K. Redford). *The University of Chicago Press, Chicago*, 337-358.
- Rannala, B. (2007). BayesAss edition 3.0 user's manual. Davis (CA): University of California. Available from: <ftp://ftp.ie.freshrpms.net/pub/sourceforge/b/ba/bayesass/BA3/3.0.3/docs/BA3Manual.pdf>.
- Redeker, S., Andersen, LW., Pertoldi, C., Madsen, AB., Jensen, TS., & Jørgensen, JM. (2006). Genetic structure, habitat fragmentation and bottlenecks in Danish bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 71(3): 144-158.
- Renaudeau d'Arc, N., Cassini, MH., Vilá, BL. (2000). Habitat use of vicuñas in Laguna Blanca Reserve (Catamarca, Argentina). *Journal of Arid Environment*, 46: 107-115.
- Rodriguez, J., Dodd, C.S., Rosadio, R., Wheeler, J.C. & Bruford, M. (2006). Paternity testing using microsatellite DNA in alpacas (*Vicugna pacos*). En: *South American Camelids Research – Volume I. Proceedings of the 4th European Symposium on South American Camelids and DECAMA European Seminar* (Ed. by M. Gerken & C. Renieri). *Wageningen Academic Publishers, The Netherlands*, 273-278.
- Röder, M., Korzun, V., Gill, Bikram. & Ganal, M. (1998). The physical mapping of microsatellite markers in wheat. *Genome*, 41: 278-283.
- Sánchez, E. (1984). Sobre población y necesidad de extracción de vicuña en Pampa Galeras. En: Villiger F (ed), *La vicuña. Editorial Los Pinos*, Lima, 12-18.

- Sarno, R.J., David, V.A., Franklin, W.L., O'Brien, S.J., & Johnson, W.E. (2000). Development of microsatellite markers in the guanaco, *Lama guanicoe*: Utility for South American camelids. *Molecular Ecology*, 9: 1922-1924.
- Sarno, R.J., Villalba, L., Bonacic, C., González, B., Zapata, B., MacDonald, D.W., O'Brien, S.J. & Johnson, W.E. (2004). Phylogeography and subspecies assessment of vicuñas in Chile and Bolivia utilizing mtDNA and microsatellite markers: implications for vicuña conservation and management. *Conservation Genetics*, 5: 89-102.
- Smouse, P.E. & Peakall, R. (1999). Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*, 82: 561-573.
- Takahashi, M., Masuda, R., Uno, H., Yokoyama, M., Suzuki, M., Yoshida, M.C. & Ohtaishi, N. (1998). Sexing of carcass remains of the Sika deer (*Cervus nippon*) using PCR amplification of the Sry gene. *Journal of veterinary medical science*, 60: 713-716.
- Tóth, G., Gáspari, Z. & Jurka, J. (2000). Microsatellites in different eukaryotic genomes: Survey and analysis. *Genome Research*, 10: 967-981.
- Thomas, O. (1917). Preliminary diagnosis of new mammals obtained by the Yale National Society Peruvian Expedition. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, 68: 1-3.
- Troll, C. (1968). The cordilleras of the tropical Americas: Aspects of climatic, phytogeographical, and agrarian ecology. En C. Troll, ed., *Geo-Ecology of the Mountainous Regions of the Tropical Americas*, 15-56.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M., Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535-538.
- Vilá, B.L. (1994). Use of dung piles by neighbouring vicuñas. *Zoologisch Saugetierkunde*, 59: 126-128.
- Vilá, B.L. (1995). Spacing patterns within groups in vicuñas, in relation to sex and behaviour. *Studies on Neotropical and Environment*, 30: 45-51.
- Vilá, B.L. (2000). Comportamiento y organización social de la vicuña. Manejo sustentable de la Vicuña y el Guanaco (ed. Por B. Gonzalez, F. Bas, C. Tala y A. Iriarte). Imp. L. Flores, Santiago, 209-191.

- Vilá, BL. & Roig, VG. (1992). Diurnal movements, family groups and alertness of vicuña (*Vicugna vicugna*) during the late dry season in the Laguna Blanca Reserve (Catamarca, Argentina). *Small Ruminant Research*, 7: 289-297.
- Villalba, L. (2003). Uso de hábitat e interacciones entre la vicuña y la alpaca en la reserva nacional de fauna Ulla Ulla, Bolivia. En: CIF, FCAyP-UMSS (eds), Memorias del III Congreso Mundial sobre Camélidos, 1er. Taller internacional de DECAMA, Vol I., Potosí, Bolivia, 205-210.
- Villesen, P. & Fredsted, T. (2006). Fast and non-invasive PCR sexing of primates: apes, old world monkeys, new world monkeys and Strepsirrhines. *BMC Ecology* 6: 8. Available in: <http://www.biomedcentral.com/1472-6785/6/8>
- Webb, SD. (1974). Pleistocene Llamas of Florida, with a brief review of the Lamini. En: Webb, SD. (ed). Pleistocene Mammals of Florida. *The University Presses of Florida: Gainesville*, 170-213.
- Weinstock, J., Shapiro, B., Prieto, A., Marín, JC., González, BA., Gilbert, MTP. & Willerslev, E. (2009). The Late Pleistocene distribution of vicuñas (*Vicugna vicugna*) and the “extinction” of the gracile llama (“*Lama gracilis*”): new molecular data. *Quaternary Science Reviews*, 28: 1369-1373.
- Weir, BS. & Cockerham, CC. (1984). Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
- Wheeler, JC. (1991). Origen, evolución y status actual. En: Fernández-Baca S (ed) Avances y perspectivas en el conocimiento de los camélidos sudamericanos: 11-48. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe, Santiago, Chile.
- Wheeler, JC. (1995). Evolution and present situation of the South American Camelidae. *Biological Journal of the Linnean Society*, 54: 271-295.
- Wheeler, JC. (2006). Historia Natural de la Vicuña. En: Vilá B (ed). Investigación Conservación y Manejo de Vicuñas. Proyecto MACS: Buenos Aires, Argentina, 25-36.
- Wheeler, JC. Fernández, M., Rosadio, R., Hoces, D., Kadwell, M. & Bruford, MW., (2001). Diversidad Genética y manejo de poblaciones de vicuñas en el Perú. *RIVEP Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú Suplemento*, 1: 170-183.

- Wheeler, J.C. & Hoces Roque, D. (1997). Community participation, sustainable use and vicuña conservation in Peru. *Mountain Research and Development*, 17: 283-287.
- Wheeler J.C. & Laker, J. (2009). The vicuña in the Andean altiplano. En: The vicuña: the theory and practice of community based wildlife management. I. Gordon (Ed.). *Springer, New York*, 21-34.
- Wilson, G.A. & Rannala, B. (2003). Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics*, 163: 1177-1191.
- Winter, P. & Kahl, G. (1995). Molecular marker technologies for plant improvement. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 11: 438-448.
- Winterhalder, B. & Thomas, R.B. (1978). Geocology of Southern Highland Peru: A Human Adaptation Perspective. Occasional Paper 27. Boulder, Colo.: *Institute of Arctic and Alpine Research*.
- Woods, J.G., Paetkau, D., Lewis, D., McLellan, B.N., Proctor, M. & Strobeck, C. (1999). Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. *Wildlife Society Bulletin*, 27: 616-627.
- Wu, H., Guang, X., Al-Fageeh, M.B., Cao, J., Pan, S., Zhou, H., ... & Alsharqeti, A.S. (2014). Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments. *Nature Communications*, 5: 5188 doi: 10.1038/ncomms6188.



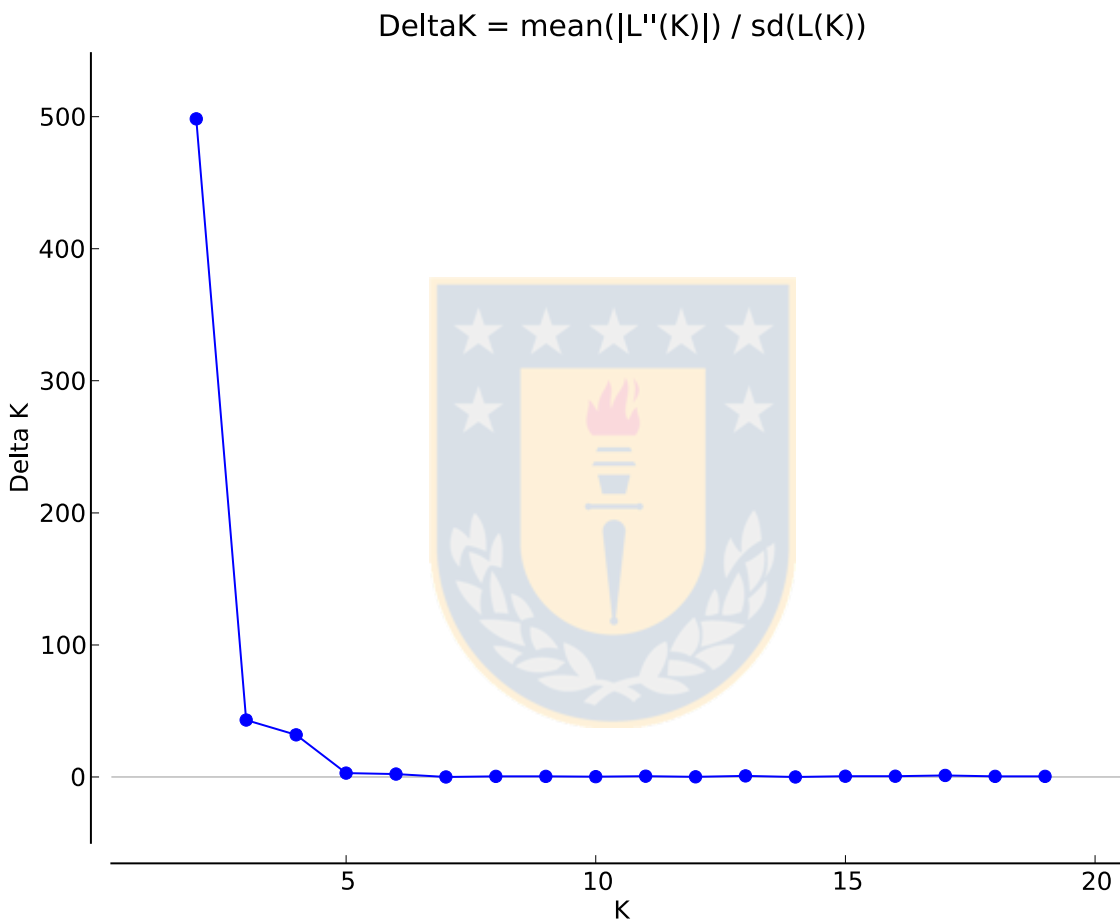
## ANEXOS

Anexo 1. Localidades con sus índices de diversidad genética: Promedio de alelos por locus (A), heterocigosidad observada (Ho), esperada (He) y factores ambientales: Precipitaciones anuales (milímetros: mm), Temperatura promedio Anual (en grados Celsius: °C) y Altitud; Altitud (metros sobre el nivel del mar: msnm).

Localidad	A	Ho	He	Prec. Anual	T° prom. Anual	Altitud
Vvm	10,733±4,964	0,401±0,163	0,696±0,177	-	-	-
CT	1,933±1,033	0,387±0,252	0,272±0,248	783	8,842	3757
TC	3,200±1,424	0,392±0,263	0,519±0,321	771	9,442	3539
TP	2,400±1,454	0,617±0,335	0,392±0,364	924	3,917	4531
TT	2,933±1,710	0,356±0,219	0,447±0,294	738	4,483	4280
CC	2,667±1,345	0,444±0,245	0,453±0,263	683	7,758	3778
HC	3,800±2,484	0,456±0,278	0,570±0,286	760	4,442	4370
AY	3,533±1,598	0,416±0,253	0,545±0,268	690	5,867	4022
PG	5,067±2,251	0,502±0,222	0,644±0,210	767	5,742	4063
CA	4,867±2,997	0,419±0,271	0,531±0,298	764	6,342	4085
PI	3,067±1,486	0,481±0,252	0,521±0,271	730	3,425	4612
IG	5,733±2,576	0,460±0,230	0,640±0,236	687	5,983	4216
LA	7,533±3,583	0,383±0,225	0,680±0,187	317	1,675	4606
AN	4,533±1,767	0,464±0,244	0,680±0,187	302	2,025	4549
LG	5,200±2,366	0,419±0,149	0,641±0,187	305	0,900	4722
SS	6,333±2,526	0,398±0,270	0,706±0,183	243	2,867	4416
Vvv	11,333±4,499	0,370±0,161	0,735±0,179	-	-	-
SA	7,000±3,402	0,351±0,221	0,657±0,232	54	5,275	4009
SC	6,400±2,063	0,357±0,186	0,698±0,137	193	9,575	3793
IN	6,333±2,193	0,339±0,207	0,658±0,193	268	9,758	3624
PJ	2,200±1,971	0,444±0,410	0,469±0,414	59	5,767	4190
LL	4,133±1,642	0,376±0,229	0,608±0,213	30	3,850	4482
LB	5,133±2,232	0,331±0,233	0,661±0,153	38	5,300	4246
TR	5,267±1,831	0,496±0,268	0,698±0,189	67	3,458	4348
SJ	2,467±0,834	0,487±0,322	0,569±0,265	193	11,867	2626

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 2. Delta K de Evanno basado en los datos microsatelites de *Vicugna vicugna*. El mayor Delta K=2 (Delta K =  $\text{prom.}(|L''(K)|) / \text{sd}(L(K))$ ) según Evanno *et al.* (2005) como función de K.



Fuente: Elaboración propia.

Anexo 3. Tasas de migración entre pares de poblaciones de la subespecie *Vicugna vicugna mensalis*. Los índices representan la fracción de individuos de la población receptora que son migrantes de la población de origen por generación.

		POP. ORIGEN									
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
POP. RECEPTORA	M1	0,857(0,035)	0,016(0,015)	0,016(0,015)	0,016(0,015)	0,0157(0,015)	0,016(0,015)	0,016(0,015)	0,016(0,015)	0,016(0,015)	0,016(0,016)
	M2	0,056(0,038)	0,688(0,020)	0,025(0,026)	0,021(0,019)	0,0218(0,020)	0,021(0,020)	0,021(0,020)	0,021(0,020)	0,105(0,047)	0,021(0,020)
	M3	0,011(0,011)	0,011(0,011)	0,893(0,028)	0,011(0,010)	0,0113(0,011)	0,011(0,010)	0,010(0,010)	0,011(0,011)	0,020(0,015)	0,011(0,011)
	M4	0,013(0,013)	0,013(0,013)	0,014(0,014)	0,701(0,057)	0,0306(0,020)	0,013(0,013)	0,013(0,013)	0,013(0,013)	0,174(0,065)	0,013(0,013)
	M5	0,014(0,013)	0,014(0,013)	0,015(0,014)	0,014(0,013)	0,8285(0,035)	0,028(0,019)	0,014(0,013)	0,013(0,013)	0,048(0,027)	0,013(0,013)
	M6	0,012(0,012)	0,012(0,012)	0,012(0,012)	0,013(0,012)	0,0123(0,012)	0,884(0,031)	0,013(0,012)	0,012(0,012)	0,013(0,012)	0,017(0,016)
	M7	0,020(0,019)	0,020(0,019)	0,020(0,019)	0,020(0,019)	0,0650(0,052)	0,020(0,019)	0,686(0,018)	0,020(0,019)	0,110(0,056)	0,020(0,019)
	M8	0,013(0,012)	0,013(0,012)	0,013(0,012)	0,013(0,012)	0,2083(0,032)	0,022(0,017)	0,013(0,012)	0,679(0,012)	0,013(0,012)	0,014(0,014)
	M9	0,010(0,009)	0,009(0,008)	0,009(0,009)	0,009(0,009)	0,0112(0,011)	0,009(0,009)	0,009(0,009)	0,009(0,008)	0,892(0,025)	0,034(0,017)
	M10	0,010(0,009)	0,009(0,008)	0,006(0,006)	0,009(0,009)	0,0070(0,007)	0,007(0,007)	0,009(0,009)	0,010(0,009)	0,011(0,009)	0,923(0,020)

Fuente: Elaboración propia.



Anexo 4. Tasas de migración entre pares de poblaciones de la subespecie *Vicugna vicugna vicugna*. Los índices representan la fracción de individuos de la población receptora que son migrantes de la población de origen por generación.

		POP. ORIGEN						
		V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
POP. RECEPTORA	V1	0,922(0,024)	0,010(0,010)	0,010(0,009)	0,010(0,009)	0,010(0,009)	0,030(0,016)	0,010(0,009)
	V2	0,012(0,011)	0,928(0,026)	0,012(0,012)	0,012(0,011)	0,012(0,012)	0,012(0,012)	0,012(0,012)
	V3	0,009(0,009)	0,020(0,014)	0,929(0,024)	0,008(0,008)	0,009(0,009)	0,016(0,015)	0,008(0,008)
	V4	0,030(0,028)	0,030(0,028)	0,036(0,032)	0,697(0,028)	0,030(0,028)	0,146(0,049)	0,030(0,028)
	V5	0,020(0,018)	0,020(0,019)	0,020(0,019)	0,020(0,019)	0,882(0,038)	0,020(0,019)	0,020(0,019)
	V6	0,013(0,013)	0,013(0,013)	0,028(0,019)	0,014(0,013)	0,053(0,024)	0,866(0,032)	0,013(0,013)
	V7	0,016(0,015)	0,016(0,015)	0,016(0,015)	0,016(0,015)	0,150(0,037)	0,104(0,034)	0,683(0,015)

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 5. Tasas de migración entre poblaciones cercanas del Cluster Norte (M8. M9) y Cluster Sur (V2, V4) con la Zona híbrida. Los resultados se presentan como la tasa de individuos de una población que tienen un origen en otra población.

		POP. ORIGEN		
		Vvm	Híbridos	Vvv
POP. RECEPTO RA	Vvm	0,969(0,015)	0,024(0,014)	0,007(0,007)
	Híbridos	0,021(0,013)	0,964(0,015)	0,015(0,009)
	Vvv	0,006(0,006)	0,006(0,006)	0,988(0,008)

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 6. Correlación entre diversidad genética; heterocigosidad esperada (He) y variables ambientales: altitud, precipitación anual y promedio de temperatura anual. b) valores p de cada correlación de diversidad con condición ambiental y c) coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>) entre diversidad y condición ambiental.

Variables	Heterocigosidad esperada (He)		
	Correlación	Valor-p	Coef. de determinación (R <sup>2</sup> )
Altitud	0,175	0,424	0,031
PrecAnual	<b>-0,606</b>	<b>0,002</b>	0,367
tpromAnual	-0,273	0,208	0,074

Fuente: Elaboración propia.

